Mihai Nechifor

Chimioterapia antibacteriană, antifungică şi antivirală actuală

casa cărţii de ştiinţă

CHIMIOTERAPIA ANTIBACTERIANĂ, ANTIFUNGICĂ ŞI ANTIVIRALĂ ACTUALĂ

Mihai Nechifor (sub redacția)

Coperta: Gabriel Blazsani

© Copyright, Mihai Nechifor, 2003

Descrierea CIP a Bibliotecii Naţionale a României
NECHIFOR, MIHAI
Chimioterapia antibacteriană, antifungică şi antivirală acută /
Mihai Nechifor. – Cluj-Napoca: Casa Cărţii de Ştiinţă, 2003.
ISBN 973-686-481-2

615.28

Director: Mircea Trifu
Fondator: dr. T.A. Codreanu
Tehnoredactare computerizată: Czégely Erika

Tiparul executat la Casa Cărţii de Ştiinţă
3400 Cluj-Napoca; B-dul Eroilor nr. 6-8
Tel./fax: 0264-431920
www.casacartii.ro; e-mail: editura@casacartii.ro

CHIMIOTERAPIA ANTIBACTERIANĂ, ANTIFUNGICĂ ŞI ANTIVIRALĂ ACTUALĂ

Mihai Nechifor (sub redacția)

Casa Cărții de Știință
Cluj-Napoca, 2003

CUPRINS

Introducere .....
Introduction .....

I. PROGRESE ÎN CHIMIOTERAPIA ANTIBACTERIANĂ
M. Nechifor 15

II. CHIMIOTERAPICE ANTIBACTERIENE ŞI ANTIFUNGICE
Chinolonele-prezent şi viitor
C. Onişcu, D. Caşcaval, A. I. Galaction, A.-M. Mocanu 51
Compuşi cuaternari de amoniu tiazolici activi pe Fusarium oxysporum
M. Palage, M. Pârvu, A. Mureşan, S. Oniga 73
RIFAOT, RIFATROL şi RIFAGIN - noi forme farmaceutice de uz veterinar cu proprietăţi antibacteriene şi antifungice
A. Neacşu, R. V. Roman, I. Miu , L. Burtan, L. Runceanu, V. Asandului, M. Fîntînaru 79
Telekia Speciosa (Schreb.Baumg.) posibilă sursă de compuşi cu acţiune asupra *Mycobacterium tuberculosis*
M. Hâncianu, A. Poiată, A. Miron, C. Tuchilus, D. Diculencu, A. Spac, V. Dorneanu, C. Aprotosoaie, U. Stănescu 83
Procedeu de obţinere a formei cristaline de maximă stabilitate a Ceftriaxonei disodice
C. Mihai, A. Neacşu, V. Asandului, M. Aniţucăi 88
O nouă clasă de chimioterapice antibacteriene - Oxazolidinonele
M. Nechifor, C. Nechifor 93

III. DATE REFERITOARE LA FARMACOLOGIA ŞI MICROBIOLOGIA MEDICAŢIEI ANTIBACTERIENE ŞI ANTIFUNGICE
Aplicarea metodei MTD şi a modelării moleculare pentru studiul activităţii antibacteriene în seria unor 7-azetidinilchinolone
A. Hegheş, C. Seiman, C. Deheleanu, D. Ghiran, D. Ciubotariu 111
Analiza spectrală în UVA a unor derivaţi cromanonici cu sulf şi azot în moleculă
M. Lazăr, D. Lazăr, D. Caşcaval, A. Corciovă 119
Studiul clinic de bioechivalenţă a două formulări de amoxicilină suspensie
I. Savu, S. Surdulescu, M. Suto, C. Sava, L. Petcu, M. Botnarciuc, V. Sauciuc, A. Zugravu, V. Botnarciuc, F. Buruiană 125
Sensibilitatea la ciprofloxacină a stafilococilor
I. Bădicuţ, A. Poiată, C. Tuchiluş, L. Gregore, D. Buiuc 134
Activitatea comparată in vitro a meropenemului asupra unor bacili Gram-negativi
A. Poiată, C. Tuchiluş, R. Filip, D. Rotaru, I. Bădicuţ, A. Ambăruş, D. Buiuc 140
Efecte de tip imunomodulator ale chimioterapicelor
C. E. Lupuşoru, C. M. Ghiciuc, I. M. Antonesei 148
Implicaţii ale polimorfismului genetic în metabolizarea chimioterapicelor
C. M. Ghiciuc, C. E. Lupuşoru, I. M. Antonesei 155

IV. CHIMIOTERAPIA INFECȚIEI BACTERIENE

Tratamentul cu timentin în infecțiile severe din terapia intensivă
Gh. Dorobăț, C. Dorobăț, C. Luca, C. Corcaci, A. Teodor, L. Ghibu, C. Nicolau 163
Studiu terapeutic asupra salmonelozei gastrointestinale
M. C. Luca, A. Teodor, C. Dorobăț, D. Leca, R. Fântânaru, C. Corcaci, D. Teodor, T. Turcu 168
Noțiuni de fiziopatologie cu implicații în terapia gastritelor cu *Helicobacter pylori*
M. Bădescu, M. Ciocoiu, L. Bădescu, C. Fratu 173
Fluorochinolonele în tratamentul endocarditelor bacteriene
D. Leca, D. Teodor, A. Ciobanu, E. Miftode, C. Luca, F. Dănilă, A. Teodor 190
Eficiența fluorochinolonelor în tratamentul meningitelor bacteriene
D. Leaca, A. Latiș, E. Miftode, D. Teodor, A. Teodor, A. Dănilă 196
Tratamentul cu antibiotice la valvulari cu proceduri oro-dentare
R. Ghiuru, V. Armașu 202
Evaluarea comparativă a antibioticelor sistemice în parodontite
S. M. Popescu, G. Pătroi, A. M. Popescu, F. Popescu, F. D. Popescu 207
Terapia antimicrobiană în pneumonia asociată sarcinii
R. Ghiuru, D. Urzică 216
Tratamentul cu cefalosporine în fibromul uterin
D. Urzică, C. Mihailide, C. Dimitriu 221
Tratamentul antibiotic în pneumoniile extraspitaliceşti (comunitare)
M. Puşchiță, V. Gligor, M. Glișici, A. Sasu 226
Opțiuni terapeutice în endoftalmitele postoperatorii
D. Brănișteanu, D. Chiseliță, O. Chelaru, O. Gagos-Zaharia, S. Loszadi 232
Tratamentul ulcerelor infecțioase
C. Bogdănici, C. Lupașcu, A. Preutesei, C. Ciobanu, E. Spac, C. Postolache, D. Chiseliță 238
Evaluarea unor citokine proinflamatorii şi a procalcitoninei la bolnavi cu complicații neurologice in sepsis şi importanța ei pentru terapeutică
M. Cojocaru, I. M. Cojocaru, C. Muşuroi, S. Iacob 247
Scheme terapeutice folosite în tratamentul meningitei nozocomiale
D. Mihalache, V. Luca, C. Corcaci, T. Turcu 256
Infecții severe la subiecții imunocompromişi şi terapia lor
I. Miron, C. Ionescu, G. Coman, I. Tansanu, O. Brumariu 262

V. REACȚII ADVERSE LA CHIMIOTERAPIA ANTIBACTERIANĂ

Studiu alergologic privind toleranța la fluorochinone a pacienților cu reacții adverse la antibiotice beta-lactamice
F. D. Popescu, M. Vieru 267
Hepatopatia rifampicinică la pacienții cu meningită tuberculoasă
M. C. Luca, C. Dorobăț, A. Teodor, R. Scurtu, Dn. Teodor, V. Luca 280
Reacții alergice la Beta-lactamine
M. Puşchiță, C. Ciacli, V. Gligor, A. Sasu 286

VI. REZISTENŢA BACTERIANĂ LA CHIMIOTERAPIE

Monitorizarea rezistenţei dobândite la antibiotice a tulpinilor microbiene cu potenţial nosocomial izolate în secţii de terapie intensivă
R. Cinca, R. Moldovan, M. Licker, A. Tudor, I. Ana, I. Malita, D. Ana 293
Sistem de supraveghere epidemiologică a rezistenţei microbiene la chimioterapice şi indicaţii în controlul infecţiilor nosocomiale în sectoare clinice cu risc infecţios
V. Ordeanu 299
Supravegherea epidemiologică a rezistenţei bacteriene la chimioterapice pentru controlul infecţiilor nosocomiale
V. Ordeanu, F. Paul 316
Rezistenţa bacteriană la chimioterapice
C. Vlase 333
Rezistenţa bacteriană în infecţiile urinare intraspitaliceşti cu bacterii Gram-negative
C. Militaru, V. Militaru, E. Chiorean, V. Cristea 346
Rezistenţa bacteriană a microorganismelor izolate din exudatele faringiene ale unor bolnavi internaţi într-un serviciu de medicină internă
C. Mărgineanu, L. Băncioiu, V. Cristea 353
Controlul utilizării terapeutice a antibioticelor
M. Voitcu, E. M. Cărăuşu 359
Rezistenţa la antibiotice în sepsis
C. Bunu, C. Cristescu, K. Bota, E. Nicoară 367
Ghid de antibiotice cu rol în monitorizarea infecţiilor nosocomiale şi a rezistenţei la medicamentele antimicrobiene
D. Azoică, D. C. Corcaci, D. Diculencu 377

VII. MEDICAMENTE ANTIVIRALE ŞI UTILIZAREA LOR TERAPEUTICĂ

Virustaticele naturale din nou în actualitate
U. Stănescu, A. Miron, M. Hâncianu 387
Rolul lamivudinei în tratamentul actual al hepatitei cronice virale B. Indicaţii şi controverse
L. Ciobanu 395
Lamivudina şi α-interferonul în tratamentul unei forme severe de hepatită acută cu virus B
C. Corcaci, A. Vâţă, R. Scurtu, C. Petrovici, V. Luca 404
Tratamentul cu lamivudină la pacienţii transplantaţi renal AgHBS pozitivi
A. Covic, M. Diaconu, I. Buhăiecsu 409

CONTENTS

Introduction .....
Introduction .....

I. PROGRES IN FIELD OF ANTIBACTERIAL CHEMOTHERAPY
M. Nechifor *15*

II. ANTIBACTERIAL AND ANTIFUNGIC CHEMOTHERAPIC DRUGS
Quinolones-present and future
C. Onişcu, D. Caşcaval, A. I. Galaction, A.-M. Mocanu *51*
Quaternary ammonium compounds with thiazol active on botrytis cinerea and fusarium oxysporum vegetal fungi
M. Palage, M. Pârvu, A. Mureşan, S. Oniga *73*
Rifaot, Rifatrol, Rifagin-new pharmaceutical forms with antibacterial and antifungal properties
A. Neacsu, R. V. Roman, I. Miu , L. Burtan, L. Runceanu, V. Asandului, M. Fîntînaru 79
Antimycobacterial extracts from *Telekia speciosa* (Schreb.) Baumg.
M. Hâncianu, A. Poiată, A. Miron, C. Tuchilus, D. Diculencu, A. Spac, V. Dorneanu, C. Aprotosoaie, U. Stănescu *83*
Method for producing cristalin form with maximum stability of disodic Ceftriaxone
C. Mihai, A. Neacşu, V. Asandului, M. Aniţucăi *88*
A new class of antibacterial chemotherapics-Oxazolidinones
M. Nechifor, C. Nechifor *93*

III. DATA ABOUT THE PHARMACOLOGY AND MICROBIOLOGY OF ANTIMICROBIAL AND ANTIFUNGIC DRUGS
Application of the MDT method and molecular modelling to the study of antibacterial activity of a series of 7-azetidinylquinolones
A. Hegheş, C. Seiman, C .Dehelean, D. Ghiran, D. Ciubotariu *111*
UV Spectroscopic characterization of some cromanones derivatives with sulphur and nitrogen
M. Lazăr, D. Lazăr, D. Caşcaval, A. Corciovă *119*
Bioequivalence study of two kinds of amoxicillins
I. Savu, S. Surdulescu, M. Suto, C. Sava, L. Petcu, M. Botnarciuc, V. Sauciuc, A. Zugravu, V. Botnarciuc, F. Buruiană *125*
Staphilococus susceptibility to ciprofloxacin
I. Bădicuţ, A. Poiată, C. Tuchiluş, L. Gregore, D. Buiuc *134*
In vitro comparative activity of meropenem against Gram-negative bacilli
A. Poiată, C. Tuchiluş, R. Filip, D. Rotaru, I. Bădicuţ, A. Ambăruş, D. Buiuc *140*
Immunomodulatory effects of antibiotics
C. E. Lupuşoru, C. M. Ghiciuc, I. M. Antonesei *148*
Clinical implications of genetic polimorfism in the metabolization of chemoterapic drugs
C. M. Ghiciuc, C. E. Lupuşoru, I .M. Antonesei *155*

IV. THE CHEMOTHERAPY OF BACTERIAL INFECTION

Treatment of the timentin in the systemic severe infections
Gh. Dorobăţ, C. Dorobăţ, C. Luca, C. Corcaci, A. Teodor, L. Ghibu, C. Nicolau 163
Therapeutic study of gastrointestinal salmonellosis
M. C. Luca, A. Teodor, C. Dorobăţ, D. Leca, R. Fântânaru, C. Corcaci, D. Teodor, T. Turcu 168
Pathophysiological data with involvements in *Helicobacter pylori* gastritis therapy
M. Bădescu, M. Ciocoiu, L. Bădescu, C. Fratu 173
Fluoroquinolones in treatment of bacterial endocarditis - considerations on 19 patients
D. Leca, D.Teodor, A. Ciobanu, E. Miftode, F. Dănilă, A.Teodor 190
Fluoroquinolone eficiency in the treatment of bacterial meningitis
D. Leaca, A. Latiş, E. Miftode, D. Teodor, A. Teodor, A. Dănilă 196
Antibiotic treatment in patients with valvular disease during oro-dental maneuvers
R. Ghiuru, V. Armaşu 202
Comparative evaluation of systemic antibiotics in periodontitis
S. M. Popescu, G. Pătroi, A. M. Popescu, F. Popescu, F. D. Popescu 207
Antimicrobial therapy in the pneumonia complicating pregnancy
R. Ghiuru, D. Urzică 216
The therapy with tienam in uremic hemolytic sindrome in adult age
D. Urzică, C. Mihailide, C. Dimitriu 221
The antibiotic treatment in communitarian pneumonia
M. Puşchiţă, V. Gligor, M. Glişici, A. Sasu 226
Treatment options in postoperative endophthalmitis
D. Brănişteanu, D. Chiseliţă, O. Chelaru, O. Gagos-Zaharia, S. Loszadi 232
The treatment of infectious ulcers
C. Bogdănici, C. Lupaşcu, A. Preutesei, C. Ciobanu, E. Spac, C. Postolache, D. Chiseliţă 238
Evaluation of some proinflammatory cytokines and of procalcitonin in patients with neurologic complications in sepsis
M. Cojocaru, I. M. Cojocaru, C. Muşuroi, S. Iacob 247
Therapeutical associations used in the treatment of nosocomial meningitis - 114 cases study
D. Mihalache, V. Luca, C. Corcaci, T. Turcu 256
Severe infections in immunocompromised children
I. Miron, C. Ionescu, G. Coman, I. Tansanu, O. Brumariu 262

V. SIDE EFFECTS OF ANTIBACTERIAL CHEMOTHERAPY

Fluoroquinolone tolerance in patients with adverse drug reactions to beta-lactam antibiotics
F.D. Popescu, M. Vieru 267
Liver involvement after rifampicine at patients with tuberculous meningitis
M.C. Luca, C. Dorobăţ, A. Teodor, R. Scurtu, Dn. Teodor, V. Luca 280
Allergic reactions to beta – lactamins
M. Puşchiţă, C. Ciacli, V. Gligor, A. Sasu 286

VI. BACTERIAL RESISTENCE TO CHEMOTHERAPICS

Monitorising of acquired resistance to antibiotics of nosocomial strains isolated in intensive care units
R. Cinca, R. Moldovan, M. Licker, A. Tudor, I. Ana, I. Malita, D. Ana 293

Epidemiological superveillance system of the microbial resistance to chemiotherapics and implications in the control on nosocomial infections in the chimical high risk ward
F. Paul, V. Ordeanu 299
The epidemiological surveilence of bacterial resistance at chemiotherapics, for the nosocomial infections control
V. Ordeanu, F. Paul 316
Antibiotics and bacterial resistance
C. Vlase 333
Bacterial resistance in Gram-negative hospital acquired urinary tract infections
C. Militaru, V. Militaru, E. Chiorean, V. Cristea 346
The antibacterium resistance of the isolated microorganismes from the pacients'pharyngeal cultures in an internal medicine service
C. Mărgineanu, L. Băncioiu, V. Cristea 353
The control of the therapeutical use of antibiotics (2002 list)
M. Voitcu, E. M. Cărăuşu 359
The resistance to antibiotics in sepsis
C. Bunu, C. Cristescu, K .Bota, E. Nicoară 367
Guidelines of antibiotic therapy for monitoring the nosocomial infections and resistance to antimicrobial agents
D. Azoică, D. C. Corcaci, D. Diculencu 377

VII. ANTIVIRAL DRUGS AND THE THERAPEUTIC USC
Actuality of natural antiviral drugs
U. Stănescu, A. Miron, M. Hâncianu 387
The role of lamivudine in the current treatment of chronic hepatitis B. Indications and controversies
L. Ciobanu 395
Combined lamivudine and α - interferon therapy of severe acute hepatitis B - a case review
C. Corcaci, A. Vâţă, R. Scurtu, C. Petrovici, V. Luca 404
Lamivudine treatment in HBS Ag positive renal transplant recipients
A. Covic, M. Diaconu, I. Buhăiecsu, M. Covic 409

CUVÂNT ÎNAINTE

Medicina parcurge azi un proces accelerat de schimbare, generat de o parte de viteza cu care se produc descoperirile ştiinţifice şi pe de altă parte de necesitatea de a răspunde cât mai bine nevoilor sociale. Ridicarea standardului de viaţă şi creşterea calităţii vieţii impune în mod necesar ameliorarea stării de sănătate a omului şi posibilitatea prevenirii şi tratării eficiente a bolilor.

Progresul cercetării reflectat în practica clinică a făcut din medicină o ştiinţă, iar afluxul informaţional fără precedent din ultimele decenii a schimbat fundamental viziunea asupra normalului dar şi a bolii concomitent cu o mai bună înţelegere a mecanismelor vieţii.

În acest context s-a dezvoltat în cursul secolului al XX-lea şi la începutul acestui secol chimioterapia antibacteriană, antifungică şi antivirală.

Descoperirea în 1929 de către Flemming a penicilinei, sinteza în 1945 de către Domagk a primelor sulfamide a schimbat complet posibilităţile de abordare terapeutică a bolilor produse de bacterii patogene şi a reprezentat unul dintre cele mai importante evenimente ştiinţifice din secolul al XX-lea (recompensat cu două premii Nobel).

Reflectând realitatea zilelor noastre Gary Gardner arăta în "Starea lumii 2002" ca realizarea de noi medicamente adecvate pentru a combate rezistenţa bacteriană permanent crescută este o problemă la nivel mondial şi tot el arată că există prea puţine chimioterapice pentru tratarea bolilor tropicale.

Rezistenţa bacteriană la chimioterapice este considerată de Lester Brown în lucrarea "Probleme globale ale omenirii 1996 " drept unul dintre fenomenele majore cu care se confruntă societatea contemporană.

Fenomenul necesită pentru combatere noi resurse financiare , iar utilizarea incorectă a chimioterapicelor este una dintre principalele sale cauze.

De exemplu, în 1996 tratarea unui caz de tuberculoză cu BK sensibil la chimioterapia uzuală costă circa 10 000 de dolari , iar terapia unui caz din aceeaşi boală cu BK polirezistent la chimioterapice poate ajunge la suma de 200 000 de dolari, adică de 20 de ori mai costisitor.

Realizarea acestor deziderate şi a multor altora presupune o colaborare adecvată între diferite categorii de specialişti din domeniul realizării şi utilizării chimioterapicelor precum şi o politică de finanţare adecvată a cercetărilor în domeniu.

Mărirea necontenită a numărului de grupe de chimioterapice utilizate în terapia antibacteriană, antifungică şi antivirală ridică probleme complexe legate de alegerea medicamentului sau medicamentelor cele mai indicate precum şi a asocierilor optime dintre ele.

Aceasta cere o permanentă înnoire a cunoştinţelor despre medicament şi farmacoterapie.

Una dintre problemele ce se ridică este complianţa terapeutică la utilizarea acestor medicamente şi corelarea strânsă a eficienţei terapeutice cu respectarea riguroasă a schemelor de tratament.

Cronicizarea unor afecţiuni acute, incidenţa ridicată în România a tuberculozei şi a altor afecţiuni transmisibile se corelează din nefericire strâns cu slaba aplicare practică a indicaţiilor corecte de utilizare a medicaţiei chimioterapice.

În faţa celor ce lucrează în domeniul chimioterapiei anii şi deceniile viitoare vor pune probleme majore cum ar fi:

- terapia infecţiei cu virusul hepatic, problemă la scară globală deoarece se apreciază că există peste 170 milioane de oameni infectaţi cu virus hepatic.
- realizarea primelor chimioterapeutice active în infecţiile cu prioni
- eficientizarea terapiei antivirale (şi îndeosebi a terapiei antiretrovirale)
- forme medicamentoase cu cedare controlată a chimioterapicelor care să permită ameliorarea farmacocineticii, reducerea dozelor şi a efectelor secundare şi adverse.

Nu mai puţin importante sunt problemele legate de corelarea corectă cost-beneficiu şi beneficiu-risc, creşterea complianţei terapeutice şi problemele de ecologie legate de producere şi utilizarea medicamentului.

Societatea Română de Studiu al Chimioterapicelor afiliată la International Society of Chemotherapy doreşte între altele să constituie cadrul propice pentru ca toţi membrii săi să poată participa activ la efortul internaţional de găsire a celor mai potrivite răspunsuri la marile probleme ce se ridică în faţa chimioterapiei antibacteriene , antifungice şi antivirale în acest început de secol.

Lucrările acestui volum reflectă activitatea membrilor societăţii noastre şi o parte importantă dintre ele au fost prezentate la A-II-a Conferinţă naţională de Chimioterapie Antibacteriană, Antifungică şi Antivirală desfăşurată la Iaşi în anul 2002.

Iaşi sept.2003

Prof. dr. Mihai Nechifor
Preşedintele Societăţii
Române de Studiu al Chimioterapicelor

Foreword

Medicine is going through an accelerate process of changing, generated by the speed of scientific discoveries and the need to respond as good as possible to the social requirements. Raising life standard and increasing life quality impose the improvement of human health status and possibility of prevention and efficient treatment of disease.

The progress of research reflected into the clinical practice, made medicine a science and informational afflux without precedent in the last decades changed dramatically the vision about the normal but also about disease simultaneously with a better understand of life mechanisms.

In this context was developed during XXth and at the beginning of XXIst century the antibacterial , antiviral and antifungal chemotherapy.

Discovery in 1929 by Fleming of peniciline, synthesis in 1945 by Domagk of first sulfamides changed completely possibilities of therapeutic approach on diseases bacterial - induced and represented one of the most important scientific event during XXth century.

Reflecting reality of our days, Gary Gardner have shown in "World state 2002" that realizing new drugs adequate to defeat bacterial resistance (that permanently are increasing) is a worldwide problem . He mentioned also there are few chemotherapics for treating tropical diseases.

Bacterial resistance at chemotherapics is considered by Lester Brown in "Global problems of humankind 1996 " as one of the major phenomena to deal with in contemporary society.

The phenomena need new financial resources in order to be defeated, and incorrect use of chemotherapics is one of the main causes. For example, in 1996 treatment of tuberculosis with BK sensitive to usual therapy costs about 10.000 dollars and therapy of the same disease with BK multi -resistant to chemotherapics reach to 200.000 dollars (20 times more expensive).

The unstopped growing of chemotherapic groups used in antibacterial, antifungal and antiviral chemotherapy raise complex problems linked to the most appropriate drug (or drugs) choose and the proper association between them. This asks a permanent renewal of knowledge about the medicine and pharmacotherapy.

One of the problems is the therapeutic compliance at the use of this drugs and tight correlation of therapeutic efficiency with rigorous therapeutic schedule.

Chronic evolution of acute disease, increased incidence in Romania of tuberculosis and other transmissible disease are unfortunately tightly correlated with weak practical application of right use of chemotherapeutic medication.

In front of those that work in the field of chemotherapy, the next years and decades will confront with major issues like:

- therapy of herpetic infections that is a global problem (over 170 million people infected)
- realizing first chemotherapeutics active in prionic infections
- efficient antiviral therapy (and especially antiretroviral therapy)
- dosage forms with chemotherapeutic controlled release that allow an improvement of pharmacodinamics, decreasing doses, side and adverse effects

Not less important are the problems linked to correct correlation cost-benefice and risk-benefice, increasing therapeutic compliance and ecological problems related to producing and using of medicine.

Romanian Society for the Study of Chemotherapy, affiliated to the International Society of Chemotherapeutics is willing, among other, to be the proper frame for all its members to actively participate to international effort to find the most appropriate answers the great problems raised in front of antibacterial, antifungal and antiviral chemotherapy at the beginning of this new century.

Iasi, September 26, 2003

Prof. Dr . Mihai Nechifor
President of
Romanian Society for the Study of Chemotherapy

I. PROGRESE IN CHIMIOTERAPIA ANTIBACTERIANĂ

M. Nechifor
Catedra Farmacologie, U.M.F. „Gr. T. Popa" Iaşi

Abstract
The progresses made in the last years in the pharmacology of chemotherapics and in the therapy of bacterial infection have been made on the following directions:

A) The synthesis or extraction of new molecules with antibacterial activity
B) New structures in the groups already known of chemotherapics
C) The research and the obtaining of data considering the mecanisms of action of chemoterapics with implications in their therapeutic use.
D) New conditioning forms for a more eficient controled release of drugs
E) The use in therapy of some efects of antibacterial chemotherapics on some components of cells from human body
F) The more rigorous adaptation of the pharmacotherapy to the farmacokinetic particularities of the drugs (for instance in the infections with intracelular bacteria of the chemotherapics which penetrate the cell)
G) To take into consideration postantibiotic effect in increased proportion
H) The combination of scientifical bases of antibiotics
I) Progresses in the pharmacoepidemiology of chemotherapics and a clearer approach of side effects and of terapeutic benefit /risc ratio in antibacterial chemotherapy. The problem of bacterial rezistence to chemotherapics is considered more and more a major problem of medicine.

From the new groups of molecules with promissing chances to became antibacterial drugs in human clinic (and also veterinary) we mention:
- The feigrisolids A, B, C, D (lactonice molecules from *Streptomices grisens*)
- The ripostatins (inhibitors of ARN polimerase izolated from myxobacteria)
- The amanticins A and B (izolated from the fungus Preusia Aurantica)
- The watasemicines A, B, cedarmicins A, B (produced by *Streptomices Sp.*)

There have been isolated new molecules from novobiocine group etc.
In the field of conditioning it is used for instance fibers with tetracicline, gel with metronidazole and minocicline etc. in stomatological practice.
The concentration in some tissues and fluids from organism of some drugs (for instance azitromicine and claritromicine in gums and periodontal region) it is a more important argument for their therapeutic use.
The progresses in the pharmacology and pharmacotherapy with chemotherapics are an objective necessity because bacterial acquired resistance to chemotherapics progress continuously and the number of severe infections produced by multiresistent bacteria to chemotherapics is growing.

Domeniul chimioterapiei antibacteriene este deosebit de dinamic atât sub aspectul realizării de noi chimioterapice, cât şi sub cel al utilizării lor în practica terapeutică.

Trebuie să menţionăm din nou că noţiunea de **chimioterapic antibacterian** defineşte o substanţă *ce acţionează prin mecanisme specifice împotriva celulei bacteriene* **indiferent de modul în care a fost obţinută sau de originea acelei substanţe.**

În felul acesta, vechea diviziune în care se denumeau chimioterapice substanţele obţinute prin sinteza în laborator şi se numeau antibiotice substanţele care aveau origine naturală (erau extrase din lumea vie şi erau sau nu supuse ulterior unor procese de semisinteză) dispare, ea fiind depăşită.

Termenul de antibiotic continuă să fie utilizat şi va fi folosit, dar ţinându-se seama de cele menţionate mai sus.

Principalele progrese şi direcţii de evoluţie în domeniul chimioterapicelor şi chimioterapiei antibacteriene înregistrate în ultimii ani sunt:

a) Sinteza şi extragerea de noi molecule cu activitate antibacteriană;
b) Valorificarea superioară a structurilor chimice cu acţiune antibacteriană deja cunoscute şi utilizate în practică inclusiv prin dezvoltarea produselor de semisinteză;
c) Adaptarea farmacoterapiei cu chimioterapice mai riguros la particularităţile farmacocinetice ale acestor substanţe;
d) Cercetarea şi luarea în consideraţie în practica medicală a relaţiilor dintre chimioterapicele antibacteriene şi celulele organisului uman;
e) Reevaluarea posibilităţilor şi utilizării chimioterapicelor mai vechi;
f) Realizarea unor noi forme medicamentoase care să permită cedarea controlată a medicamentului în locul unde se află bacteriile patogene;
g) Creşterea numărului de asocieri pe baze ştiinţifice între chimioterapice sau între chimioterapice şi alte grupe de medicamente;
h) Progrese în farmacoepidemiologia chimioterapicelor şi o urmărire şi abordare mai sistematică a efectelor secundare şi adverse ale chimioterapiei antibacteriene;
i) Amplificarea aplicării principiilor medicinei bazate pe dovezi în utilizarea chimioterapiei antibacteriene şi conştientizarea crescută a importanţei raporturilor beneficiu/risc şi cost/beneficiu în cazul acestei farmacoterapii.

Vom prezenta în continuare unele aspecte referitoare la aceste domenii de pogres.

OBŢINEREA DE NOI CHIMIOTERAPICE ANTIBACTERIENE

Obţinerea de noi chimioterapice antibacteriene este esenţială pentru medicina contemporană deoarece procesul dobândirii rezistenţei bacteriene la chimioterapice este continuu şi el diminuă permanent eficacitatea şi posibilităţile de utilizare ale medicaţiei antibacteriene.

Deşi procesul de căpătare a rezistenţei microbiene la chimioterapice poate fi încetinit printr-o serie de metode (şi mai ales prin utilizarea corectă a chimioterapiei antibacteriene), el nu poate fi în nici un fel complet suprimat făcând parte din fenomenul adaptării la mediu specific întregii lumi vii. Căile pe care se merge actualmente pentru obţinerea de noi medicamente antibacteriene sunt:

a) realizarea de noi structuri chimice – sintetizate sau extrase din lumea vie;
b) dezvoltarea puternică a semisintezei, plecându-se de la structurile cunoscute şi validate în practica terapeutică;
c) extinderea cercetării farmacologice, urmărindu-se a se explora activitatea antibacteriană şi potenţialul terapeutic a noi şi noi structuri chimice (uneori realizate sau utilizate deja în practica medicală, dar în alte scopuri decât cele de activitate antibacteriană);
d) realizarea de asocieri de compuşi sau combinaţii cu scopul măririi acţiunii antibacteriene şi ameliorării eficienţei terapeutice.

În ceea ce priveşte realizarea de noi chimioterapice prin utilizarea vechilor structuri chimice sau prin realizarea de noi grupe de chimioterapice progresul realizat în ultimii ani este, de asemenea, important. Principalele grupe de structuri chimice noi sau modificate incluse în practică sunt arătate în tabelul nr.1.

Tabel nr. 1 Principalele grupe de structuri chimice, noi sau modificate introduse în practică în ultima perioadă:

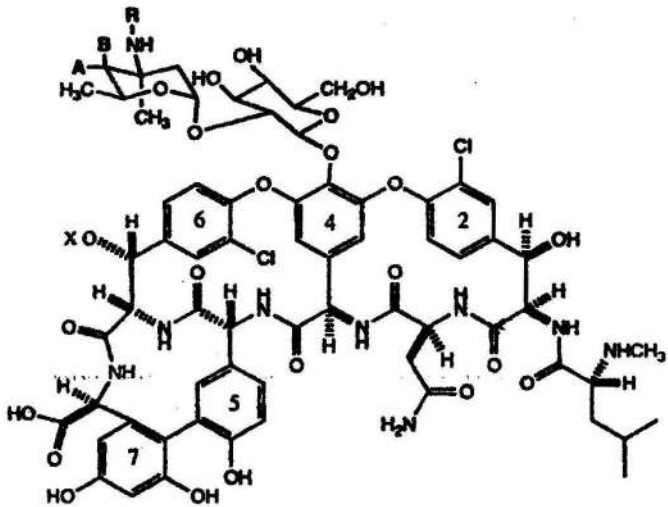
MACROLIDE :	AZALIDE KETOLIDE
GLICOPEPTIDE :	DERIVAŢI SEMISINTETICI N-SUBSTITUIŢI DALBAPEPTIDE NOI DERIVAŢI DE TEICOPLANINĂ
OXAZOLIDINDIONE:	LINEZOLID
STREPTOGRAMINE :	QUINOPRISTINA DALFOPRISTINA
CEFALOSPORINE GENERAŢIA A IV-A:	CEFEPIMĂ CEFPIROMĂ etc

În domeniul glicopeptidelor s-au realizat progrese în ceea ce priveşte mai buna caracterizare a noilor glicopeptide cum sunt teicoplanina şi s-au realizat numeroşi analogi ai vancomicinei (Fig. nr.1 după Allen şi colab. 1997)

A crescut interesul pentru glicopeptidele din familia dalbaheptidelor şi s-au sintetizat mai mulţi derivaţi din acest grup inclusiv unii care conţin l-histidina în poziţia 3 (Fig nr. 2 după Malabarba şi colab. 1997).

Interesul pentru glicopeptide a crescut proporţional cu creşterea incidenţei infecţiilor cu germeni Gram+ multirezistenţi cum ar fi infecţiile cu *Staphylococus aureus* meticlilino- rezistent (MRSA), precum şi infecţiile cu stafilococi coagulazo-negativi.

Fig. nr. 1 Structura chimică a unor antibiotice glicopeptidice (Allen şi colab., 1997)



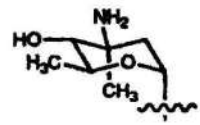
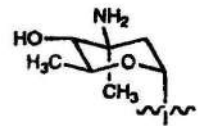
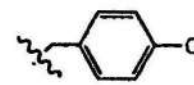
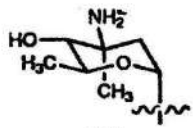
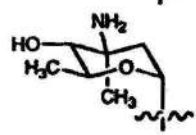
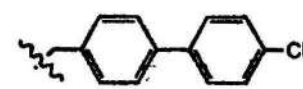
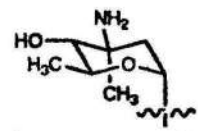
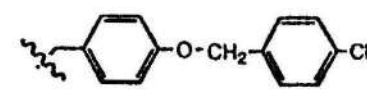
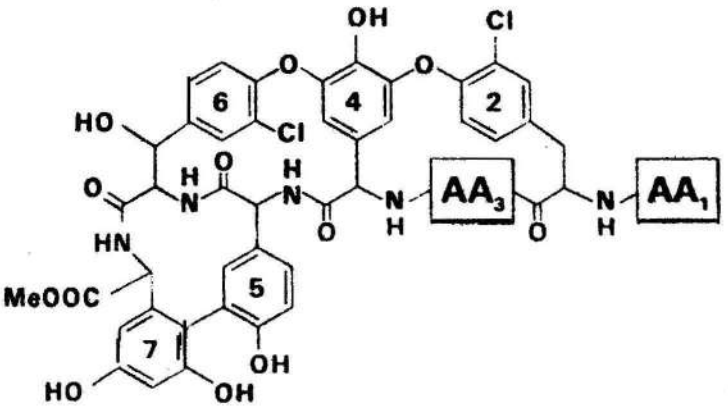
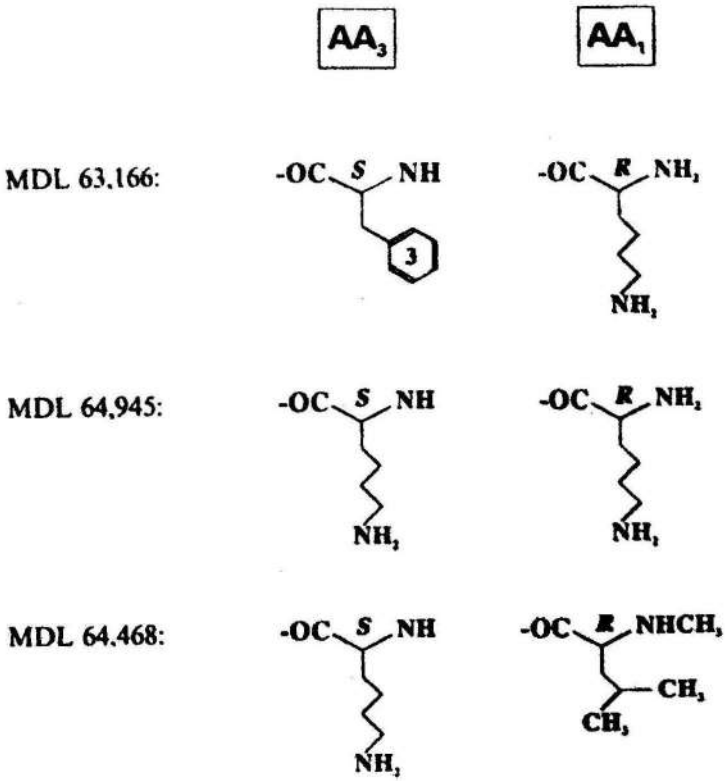
	A	B	X	R
Vancomicina	H	OH	H	H
LY264826	OH	H		H
LY191145	OH	H		
LY307599	OH	H		
LY333328	OH	H		
LY377502	OH	H		

Fig. nr. 2 Structura unor noi dalbaheptide (MDL 63, 166; MDL 64, 945 şi MDL 64, 468) (Malabarba şi colab., 1996)





S-au făcut progrese în stabilirea corelaţiilor între structura şi mecanismul de acţiune şi activitatea antibacteriană a glicopeptidelor. S-a stabilit că structura rigidă liniară heptapeptidică din molecula glicopeptidelor este cea care formează un fel de spaţiu (buzunar) care poate lega dipeptidul terminal D-alanil-D-alanina (din structura peptidoglicanilor) şi creează astfel posibilitatea inhibării sintezei peretelui bacterian de către glicopeptide. Cu alte cuvinte această catenă heptapeptidică este esenţială pentru acţiunea antibacteriană a glicopeptidelor.

Această activitate antibacteriană poate fi crescută sau diminuată de diferiţi substituienţi. Astfel adiţia unui grup de aminozahăr la aminoacidul 6 din catena liniară heptapeptidică a vancomicinei duce la obţinerea compusului LY264826 cu o activitate faţă de bacteriile gram pozitive de circa 8 ori mai mare decât activitatea vancomicinei. S-a stabilit de asemenea că dimerizarea este importantă pentru activitatea antibacteriană a moleculei de vancomicină (Williams şi colab. 1988). O altă glicopeptidă intens studiată este eremomicina (care este dalbaheptida).

Eremomicina este mai activă decât vancomicina faţă de stafilococii multirezistenţi la chimioterapice (Pavlov şi colab. 1996).

NOI STRUCTURI CHIMICE CU POTENŢIAL DE ACŢIUNE ANTIBACTERIANĂ

Un număr impresionant de structuri chimice noi extrase din organisme inferioare au fost identificate, caracterizate chimic şi se află în curs de testare.

Dintre acestea menţionăm:

-CJ-17665, izolat din *Aspergillus* şi care este eficient faţă de *S. Aureus* şi *Streptococus pyogenes* multirezistenţi la antibiotice (Sugie şi colab. 2001)

-CJ-17572 – extras din fungul *Pezicula Sp C-111877* cu o structură de derivat de equisetina şi activ faţă de *Staphylococcus faecalis* (CMI 10 μg/ml) (Sugie şi colab. 2002)

Cerdamicinele A si B – Extrase din actinomicetul *Streptomyces spp.* TP-AO456, având o structură de alfa- beta butirolactona nesaturată cu o catenă laterală de acid gras (Ssaki şi colab 2001), sunt active atât faţă de unele bacterii Gram+ şi Gram-, cât şi faţă de *Candida glabrata* cu un CMI de 0, 4 μg/ml (deci o acţiune comparabilă cu cea a amfotericinei B) (Sasaki si colab.2001)

-TPU-0031 (A si B) – acestea sunt substanţe din grupa novobiocinei produse de *Streptomyces sp.*

-TP-AO556 active faţă de bacterii Gram pozitive si Gram negative (Sasaki şi colab. 2001)

-Watasemicinele A si B – au fost izolate în 2002 şi sunt produse de *Streptomyces Sp.* TP-AO597. Aceste substanţe sunt analogi de thiazostatina active faţă de bacterii G+ si G-.

- Ripostatinele – izolate din mixobacterii şi care inhibă ARN polimeraza. Au o structură de macrociclu lactonic şi un nucleu fenilic cu catenă laterală. Sunt în

primul rând active față de *S.aureus* (Irschik şi colab. 1995)

- **Freigrisolidele (A, B, C, D)**- sunt substanțe cu acțiune antibacteriană şi cu structura lactonică izolate din *Streptomyces grisens* (Tang şi colab. 2000)

- **MEN 11505**- este un nou compus din grupa penemelor activ față de gerneni Gam+ si Gram-. Are o bună activitate antibacteriană şi față de anaerobi precum si față de bacterii producatoare de beta lactamaze cu spectru extins) (Arcamone si colab. 2000).

O altă cale nouă ce caută să crească varietatea arsenalului terapeutic antibacterian este tentativa de a utiliza ca agenți antibacterieni unele polipeptide din tractusul gastrointestinal. Aceste peptide sunt prezente în tabelul nr. 2.

Tabelul nr.2. Tentative de valorificare terapeutică a peptidelor antimicrobiene din tractul gastrointestinal

Trei familii de polipeptide antimicrobiene cu 20-40 aa si GM 3-5 kDa (Mahida et al. 2000):

a) DEFENSINE- catepsina G
- proteina de creştere a permeabilității membranei bacteriene
- azurocidina
- lizozimul

Sunt peptide cu 29-35 aa, cationice, bogate în arginină.
Formează 30-50% din proteinele din granulele azurofile din PMN.
Se produc şi în celulele Paneth din mucoasa intestinală a mamiferelor.
În celulele de la baza criptelor intestinale se sintetizează **criptidine** apropiate de defensine.

b) MAGAININE
Peptide liniare cu mai puțin de 30 aa.
Izolate din stomacul unor specii şi din glandele salivare submandibular la om

c) CECROPINE
Sintetizate în mucoasa duodenală şi jejunală la unele aniale cum este porcul.
Active numai fața de bacteriile G-.

Lipidele bactericide din lapte

În laptele matern, ca şi în laptele bovin, se găsesc o multitudine de lipide. Unele dintre aceste lipide au o acțiune antibacteriană benefică atunci când în dietă sunt incluse laptele şi unii derivați ai săi.

În general efectul antibacterian a fost observat față de germenii G+şi față de bacteriile G-(Sprong şi colab.2001, Bibel şi colab.1992).

Studiind acțiunea antibacteriană a unor lipide prezente în laptele bovin față

de bacterii implicate frecvent în afecţiuni din patologia umană cum ar fi: *E.coli, S.enteritidis, C.jepeni, L.monocytogenes, C.perfrijens.* (Sprog şi colab. 2001) au constatat că acizii graşi C 10:0 şi C12:0, sfingolipidele şi unele trigliceride conţinând acizii graşi C10:0 şi C12:0 au o puternică acţiune bactericidă (Tabel nr.3 după Sprong şi colab. 2001).

Nu se cunoaşte deocamdată de ce variaţii nu prea mari în lungimea catenei acizilor graşi conduc la mari variaţii în acţiunea lor antibacteriană.

Este posibil ca în viitor, sub o formă sau alta, aceste acţiuni antibacteriene să fie valorificate nu numai în dietoterapie, dar şi în farmacoterapia antibacteriană.

Tabelul nr. 3 Activitatea bactericidă a unor lipide din lapte (după Sprong şi colab. 2001)

Lipidul	Viabilitatea				
	E.coli	*S.enteritidis*	*C.jepeni*	*L.monocytogenes*	*C.pufrijens*
Ac.graşi CONTROL (fără nici o substanţă) -C10:0	7, 30 ± 0, 0 3, 90 ±0, $11^{\forall}$	7, 30± 0, 0 4, 68± 0, $05^{\forall}$	6, 46± 0, 02 2, 00± 0, $0^{\forall}$	7, 48± 0, 0 2, 00± 0, $1^{\forall}$	2, 00± 0, 0 2, 00± 0, 0
-C12:0	5, 99 ± 0, $0^{\forall}$	6, 41± 0, 03	2, 00± 0, $0^{\forall}$	2, 00± 0, $0^{\forall}$	2, 00± 0, 0
C14:0	7, 30± 0, 0	7, 30± 0, 0	3, 29± 0, $0^{\forall}$	4, 84± 0, $05^{\forall}$	2, 00± 0, 0
C18:1	7, 30± 0, 0	7, 30± 0, 0	4, 45± 0, 1	5, 97± 0, 13	2, 00± 0, 0
C18:2	7, 30± 0, 0	7, 30± 0, 0	3, 41± 0, 12*	2, 39± 0, 21*	2, 00± 0, 0
Fosfogliceride CONTROL	7, 48± 0, 0	7, 48± 0, 00	7, 48± 0, 0	7, 48± 0, 00	7, 03± 0, 03
Liza PC	7, 48± 0, 0	7, 48± 0, 0	7, 01± 0, 01	6, 0± 0, 12	4, 54± 0, 19*
Liza PE	7, 48± 0, 0	7, 48± 0, 0	7, 22± 0, 01	7, 28± 0, 01	5, 25± 0, 11*
Sfingolipide CONTROL	7, 25± 0, 03	7, 24± 0, 01	7, 28± 0, 0	7, 33± 0, 0	6, 91± 0, 02
SPH	2, 00± 0, $00^{\forall}$	3, 31± 0, $03^{\forall}$	2, 00± 0, $0^{\forall}$	2, 00± 0, $0^{\forall}$	3, 73± 0, $00^{\forall}$
Liza SM	6, 22± 0, $02^{\forall}$	6, 43± 0, 00	2, 00± 0, $0^{\forall}$	2, 00± 0, $00^{\forall}$	2, 00± 0, $0^{\forall}$
Gal SPH	2, 36± 0, $23^{\forall}$	4, 09± 0, 32*	2, 00± 0, $0^{\forall}$	2, 00± 0, $0^{\forall*}$	2, 00± 0, 0*

SM=Sfignomielină
PC=Fosfatidil colină
SPH=Sfignozină
$\forall$ variabilitatea bacteriilor a fost determinată pe placă după 2 h incubare la 37^0C
Datele exprimă log10 CFU/ml
* Reflectă diferenţa semnificativă statistic

O perspectivă terapeutică tot mai des conturată în terapia antibacteriană constituie utilizarea **citokinelor.** Ele sunt polipeptide cu greutate moleculară mică 8-80Kda, de mult timp cunoscute pentru implicaţiile lor în procesele imune, dar aflate la începutul utilizării lor în terapia antibacteriană.

Dintre aceste direcţii viitoare posibile de utilizare a citokinelor menţionăm:

- La persoanele deficiente în IL12 sau în receptori pentru IL12(IL12R) se constată o frecvență crescută a infecțiilor respiratorii (Romani și colab. 1997). Aceasta conduce către ideea că administrarea de IL-12 ar putea fi utilă în prevenirea, dar și în terapia acestor infecții.
- Diferiți autori, cum ar fi Holland 2000, au preconizat citokinoterapia cu IL-12 sau GM-CSF în infecții cu bacil Koch și în lepră.
- IFNγ datorită acțiunii sale asupra fagocitozei a fost preconizat ca posibilă terapie în afecțiuni date de germeni intracelulari (lepra) și unele infecții date de enterobacteriacee (Anuil 2000) etc.
- Deocamdată utilizarea terapeutică antibacteriană se loveşte atât de unele probleme principiale legate de acțiunea și mecanismul lor de acțiune în aceste situații cât și de costul ridicat al acestei terapii. Noi considerăm că ele reprezintă o posibilitate principial bună de abordare a terapiei antibacteriene ce se va contura și utiliza în viitor.

. **Tilozina** este cunoscută de mai multă vreme și a fost utilizată și ca aditiv alimentar pentru că stimulează creşterea animalelor de fermă, dar și ca medicament împotriva dizenteriilor bacteriene și a unor infecții respiratorii la animale (Lin și Douthwaite 2002).

Tilozina acționează prin legarea de subunitatea 50 S a ribozomului bacterian și consecutiv acestei legări se produce inhibarea sintezei proteice bacteriene. Este întreruptă formarea catenei polipeptidice din aminoacizi. Ca și în cazul utilizării altor chimioterapice antibacteriene ca aditivi alimentari (vezi cazul gentamicinei) și factorii de stimulare a producției de carne la animalele de fermă și în cazul tilozinei **o problemă majoră este dezvoltarea rezistenței bacteriene.**

S-au identificat 4 gene de rezistență la tilozină**(TlrA, TlrB, TlrC, TlrD).**

Prima și ultima dintre aceste gene sunt membre a grupului de gene Erm care codifică sinteza unor metil transferaze. Metilarea se face la atomul N6.Tlr D monometilează acest atom, pe când Tlr A produce o dimetilare în acest punct.

Dimetilarea la N6 este deosebit de dăunătoare pentru farmacoterapie deoarece este implicată în producerea rezistenței bacteriene pentru trei grupe importante de chimioterapice antibacteriene: macrolide, lincozamine și streptogramine.

Tlr C codifică o pompă de eflux ce scoate moleculele de chimioterapic din corpul bacteriei.

Mecanismul de rezistență mediat de Tlr B este aproape specific tilozinei. El a fost observat și la mycinomicină (care este o macrolidă înrudită structural cu tilozina), dar nu și la alte macrolide cu 16 sau 14 atomi în macrociclu sau la alte grupe de medicamente.

Unul dintre avantajele asocierii chimioterapicelor antituberculoase cu doze fixe în forme medicamentoase prefabricate, îl constituie evitarea instalării rapide a rezistenței la rifampicină a BK în cazul în care, în mod eronat, acest chimioterapic ar fi utilizat singur.

S-au obținut **și noi derivați de rifamicină**. Astfel, pe lângă rifabutin și rifapentin deja utilizați în terapia unor forme cronice de tuberculoză, dar și a unor infecții stafilococice (Burman și colab. 2001), recent a fost raportată acțiunea bactericidă față de *Mycobacterium tuberculosis* a unui nou derivat semisintetic al rifamicinei, și anume RIFALAZIL (KRM-1648) (Dietze și colab. 2001).

EFECTUL POSTANTIBIOTIC (PAE)

Este definit ca „perioada de creștere bacteriană, perturbată după îndepărtarea chimioterapicului din mediu".

Fenomenul nu este nou și a fost observat prima dată de Bigh în 1944, dar mult timp nu s-a acordat nici o atenție acestui fenomen. În ultimii ani, atât în ceea ce privește distanța în timp dintre doze cât și în ceea ce privește mărimea dozelor, în ceea ce privește explicarea fenomenului nu au existat opinii unitare, dar azi se acceptă că pătrunderea în neutrofile și alte celule și stocarea temporară a chimioterapicului, urmată de eliberarea sa din aceste celule în plasmă și în alte umori ale organismului este principalul mecanism prin care se produce efectul postantibiotic.

Există diferențe în ceea ce privește efectul postantibiotic în cazul bacteriilor G+ și a celor G-. În cazul primei grupe de bacterii sunt suficiente concentrații de chimioterapic cu puțin mai mari decât CMI pentru a produce un efect postantibiotic (de exemplu de 1-3 ore în cazul multor beta-lactamine).

Situația este diferită în cazul bacteriilor G- la care pentru a apărea un efect postantibiotic semnificativ sunt necesare concentrații de chimioterapic cu mult mai mari decât CMI (Bundtzen și colab. 1981).

Constatarea că efectul postantibiotic este important terapeutic, precum și faptul că există un număr important de bacterii patogene care se localizează intracelular sau facultativ intracelular a dus la urmărirea atentă a penetrației în celula mamă a diferite grupe de chimioterapice și a concentrațiilor atinse intracelular de acestea.

Concentrațiile intracelulare ale chimioterapicelor

Un aspect tot mai urmărit și cu o importanță considerată mare în farmacoterapia cu chimioterapice antibacteriene este capacitatea acestora de a pătrunde în celulele organismului uman.

Unele bacterii se găsesc preponderent intracelular, iar altele sunt fagocitate și o acțiune intracelulară a chimioterapicului poate fi utilă.

Strâns legată de PAE este problema concentrațiilor intracelulare ale chimioterapicelor.

Pătrunderea intracelulară este un aspect de farmacocinetică deosebit de important căruia i se acordă o importanță crescută. Există cel puțin trei motive pentru acest fapt:

a) Multe bacterii pătrund şi trăiesc intracelular şi prin urmare o acţiune eficientă împotriva lor nu se poate face decât după atingerea unor concentraţii intracelulare suficient de înalte.
b) Unele chimioterapice antibacteriene au importante acţiuni asupra unor enzime şi a altor structuri celulare importante in contextul eficienţei terapeutice urmărite a chimioterapicului respectiv.
c) Datorită existenţei efectului post-antibiotic care este considerat ca un fapt important şi chiar ca un criteriu pentru unele indicaţii terapeutice şi pentru stabilirea modalităţilor de administrare şi dozelor de chimioterapic.

Analizând penetraţia intracelulară a câtorva grupe importante de chimioterapice antibacteriene se observă diferenţe care explică şi rezultatele terapeutice diferite.

Penetraţia intracelulară a diferitelor grupe de chimioterapice actuale este variată.

Macrolidele pătrund repede în celulă şi se acumulează în citoplasmă şi lizozomi. În ceea ce priveşte concentraţiile intracelulare Ridgway şi colab. 2001 indică ordinea: eritromicina<roxitromicina<claritromicina<azitromicina.

Comparând concentraţiile extracelulare ale unor macrolide cu care ating pentru claritromicină şi pentru azitromicină concentraţii de câteva ori mai mari decât CMI faţă de bacterii puternic patogene cum este *Staphyloccus aureus.*

Astfel, în general, valorile raportului Concentraţie intracelulară/ Concentraţie inhibitoare variază între 1,68-7,12 pentru azitromicină (Butts1994).

Pătrunderea intracelulară a beta-lactamelor este slabă, iar concentraţiile pe care le pot atinge acestea (în fagocite de exemplu sunt mici).Din acest mare grup de chimioterapice, aztreonamul şi cefamadolul sunt cele care ating concentraţiile intracelulare cele mai mari (Hand şi colab. 1984, Butts 1994).

ATP-ul în mediul extern creşte intrarea în celulă a compuşilor beta-lactamici.

Benzilpenicilina pătrunde foarte puţin în celulă, la fel ca şi ampicilina sau amoxicilina. Probenicidul inhibă sechestrarea unor chimioterapice la nivelul fagozomilor şi lizozomilor şi creşte concentraţia intracitoplasmatică (în citosol) a acestor substanţe, ceea ce înseamnă că ar fi o posibilă cale de mărire a eficienţei terapeutice în terapia unor infecţii(de exemplu cu *Listeria spp).*

Pentru creşterea concentraţiei intracelulare s-a încercat introducerea unor cefalosporine şi a unor peniciline de sinteză în lipozomi.

Desideria şi Campbell 1983 arată că în mod experimental se pot atinge pe această cale concentraţii intracelulare eficiente faţă de *Salmonella typhymurium.* Deocamdată însă această formă de condiţionare a cefalosporilor şi altor antibiotice beta-lactamice nu s-a impus în practica terapeutică.

În acelaşi scop, Fattal şi colab. 1989 au inclus ampicilina în nanoparticole, dar nici această modalitate de condiţionare a medicamentului nu s-a impus în practica terapeutică.

Quinolonele pătrund repede şi realizează concentraţii intracelulare ridicate.

Nu se depozitează sau concentrează în anumite organite celulare, ci ating o concentrație citoplasmatică relativ mai uniformă. Unele dintre argumentele încercării terapiei cu oxfloxacină în infecții cu BK și în lepră îl constituie tocmai această penetrație intracelulară(unde se localizează frecvent cei doi bacili).

Analizând acumularea de pefloxacină în monocite (Menin și colab.1996) au arătat că în cazul pefloxacinei (dar și a altor quinolone) această captare este mai rapidă, nesaturabilă și reversibilă.

Bacteriile obligatoriu sau facultativ intracelulare au dezvoltat anumite mecanisme de supraviețuire și adaptare pe care un chimioterapic antibacterian eficient trebuie cel puțin în parte să le depășească. Aceste mecanisme (după Ridwawy și colab.2001) sunt prezentate în Tabelul nr. 4.

Rifampicina și substanțele înrudite pătrund în celulă, dar numai uneori ating concentrații bactericide la acest nivel.

Penetrația intracelulară a tetraciclinelor nu este prea ridicată și concentrațiile atinse în citosol sunt rareori eficiente.

Tabelul nr. 4. Mecanisme adaptative și de supraviețuire ale bacteriilor obligatoriu sau facultativ intracelulare (după Ridgwai și colab. modificat 2001)

Bacteria intracelulară	Localizarea intracelulară	Mecanismul de supraviețuire dezvoltat
L.pneumophila	Fagozomi	a) Inhibarea fuziunii fagozomilor b) Utilizarea căii mediate de receptoriiC3b cu scăderea expunerii la radicalii liberi ai oxigenului
Brucella ssp.	Fagozomi	Eliberarea de adenin și 5-guanosin mono-fosfat Care inhibă mieloperoxidaza
Richetsiia ssp.	Citosol	Sinteza de fosfolipaze și din fagozomi
C.burnetti	Fagozomi	Sinteza de fosfatază acidă
C.trachomatis	Fagozomi	Inhibarea fuziunii fagozomilor
L.monocytogenecis	Citosol	a)Migrări în citosol b)Sinteza de cisteriolizină

Astfel, un avantaj considerabil al eritromicinei și al altor macrolide este capacitatea lor de a penetra intracelular, în fagocite. De exemplu, comparativ cu concentrațiile extracelulare, concentrațiile în fagocit ale eritomicinei sunt de 4-24 ori mai mari, iar cele din macrofagul alveolar de 9-23 ori crescute (Periti și colab. 1989).

Concentrații de 4-12 ori mai mari decât cele extracelulare se întâlnesc în cazul acestei macrolide și în celule renale, în hepatocit și în mucusul bronșic. Și alte macrolide mai noi sau mai vechi, precum și ketolidele ating concentrații importante intracelular.

Astfel spiramicina are o bună penetrabilitate celulară în celule din pulmon şi prostată, josamicina se acumulează semnificativ în PMN şi în monocite la circa 45 minute după administrare etc.

O altă problemă care constituie un progres în abordarea chimioterapiei antibacteriene în ultimii ani îl constituie studierea şi luarea în consideraţie a capacităţii unor chimioterapice de a determina eliberarea de endotoxine bacteriene.

Eliberarea de endotoxine este deosebit de importantă in unele infecţii cu germeni Gram-negativi (mai ales bacili), infecţii care uneori se însoţesc de şoc toxico-septic (Cross şi Opal 1995).

Unele dintre chimioterapicele utilizate în mod curent determină eliberarea imporantă de endotoxină bacteriană. Acest fapt este întâlnit în cazul chimioterapicelor bactericide, dar nu şi în cazul celor bacteriostatice.

Această constatare schimbă într-o măsură punctul de vedere şi criteriile de alegere a unui chimioterapic antibacterian. Mult timp s-a acordat o prioritate absolută a chimioterapicelor bactericide, aspectele legate de eliberarea de endotoxina nefiind luate in consideraţie.

Considerăm că pătrunderea, acumularea şi unele acţiuni ale chimioterapicelor antibacteriene la nivelul unor celule mame are, de asemenea, o importanţă majoră. Această semnificaţie deosebită a concentraţiei şi acumulării de chimioterapice antibacteriene în celula eucariotă (şi mai ales în leucocite) considerăm că se datorează următoarelor **cauze**:

a) Un număr important de germeni patogeni sunt bacterii care se localizează intracelular sau şi intracelular şi produc diferite afecţiuni. Acţiunea chimioterapicelor împotriva acestor bacterii nu se poate face fără penetrare intracelulară. În aceste cazuri de bacterii intracelulare sau facultativ intracelulare nivelul concentraţiei chimioterapicului în celulă este mai semnificativ pentru acţiunea antibacteriană decât concentraţia serică a acelui chimioterapic.

b) Acţiunea chimioterapicelor antibacteriene asupra unor structuri ale celulei eucariote implicate în patogenia unor afecţiuni (de exemplu, asupra unor enzime).

c) Producerea efectului postantibiotic în care eliberarea de chimioterapic antibacterian din unele celule eucariote este esenţială.

d) Prezenţa intracelulară a unor chimioterapice în fagocite poate fi benefică procesului de fagocitare şi distrugere a unor bacterii.

Penetraţia intracelulară (îndeosebi în neutrofile) a chimioterapicului a fost urmărită de mai multă vreme. Cu cât raportul dintre concentraţia intracelulară şi concentraţia plasmatică a unui chimioterapic este mai mare cu atât există posibilitatea unei mai eficiente acţiuni asupra germenilor patogeni intracelulari.

Acest raport este de 1,7 pentru penicilina G, de 7,08 pentru cloramfenicol şi de 11, 46 pentru eritromicină şi chiar mai mare pentru alte chimioterapice (Madgwick şi colab.1989).

Odenlholt-Ternquist 1993 a constat că, dacă PAE la concentraţii de 10xCMI pentru meropenemă este de circa 2 ore (faţă de *E.coli şi P.aeruginosa*) la

concentrații sub CMI de meropenemă se constată un fenomen de creștere a sensibilității. *P.aeruginosa* față de *E.coli* nu se constată PA-SME.

Nu există deocamdată o explicație a acestei diferențe.

Față de *S.aureus* însă s-a constatat existența unui PA-SME (la1/2-1/8din CMI al meropenemei) (Fuentes și colab. 1995)

Pe lângă efectul postantibiotic tot mai mult este luat în considerație efectul de creștere a activității leucocitare după expunere la antibiotic (post-antibiotic leucocyte enhancement) (PALE).

Acest lucru este justificat între altele de faptul că un număr tot mai mare de persoane cu apărare imunitară deprimată din diferite cauze sunt tratate cu chimioterapice antibacteriene. Acest efect nu pare a fi din punctul de vedere al mecanismului de producere o consecință automată a efectului postantibiotic.

Studiind PALE în ceea ce privește susceptibilitatea *E.coli* și *Staphylococcus aureus* la meropenemă și impinemă, Herrera-Insua și colab. 1997 au arătat că incubarea celor două bacterii atât la concentrații supra CMI, cât și la concentrații sub CMI crește susceptibilitatea lor de a fi fagocitate.

Efectul unei preincubări a celor două bacterii 10 min cu meropenema și imipenemă față de acțiuni fagocitare a PMN este arătată în Tabelul nr. 5 (după Herrera-Iwsna și colab. 1997).

Efectul de creștere a fagocitării bacteriilor patogene după expunerea acestor bacterii o perioadă relativ scurtă de timp (10 min) la concentrații suprainhibitoare de imipenemă și meropenemă nu are un mecanism pe deplin elucidat. Se consideră că unele alterări ale peretelui bacterian ar putea fi implicate.Carbapenemele susmenționate sunt o excepție între antibioticele beta-lactamice deoarece alte substanțe din acest grup nu influențează acțiunea fagocitară, bactericidă a PMN.

Pătrunderea și acumularea pefloxacinei în aceste celule este dependentă de mecanisme moleculare ce consumă energia produsă prin metabolism celular. Un inhibitor al metabolismului energetic diminuă până la suprimare acumularea în monocite a pefloxacinei. În aceeași direcție a acumulării intracelulare s-a demonstrat că acumularea intracelulară a clindamicinei este dependentă de metabolismul oxidativ mitocondrial.

Un avantaj important al imipenemei față de alte antibiotice beta-lactamice este acela de a pătrunde mult mai bine în fagocite. Ea se leagă repede de monocite, dar, în timp, această legare scade. În cazul metronidazolului concentrația din PMN este similară cu cea extracelulară, ceea ce sugerează pătrunderea în celulă printr-un proces pasiv.

Pătrunderea în fagocite a roxitromicinei este un proces activ făcut printr-un sistem de transport membranar probabil mediat de carieri.

Cloramfenicolul (care este liposolubil) realizează în monocite concentrații de trei ori mai mari decât cele extracelulare.

S-a constatat că roxitromicina, dar și tilmicosina au un efect postantibiotic destul de lung (mai lung decât al eritromicinei) și față de diferiți germeni mai puțin studiați, așa cum este *Pasteurella multicida* (Lim și Yun 2001)

Durata efectului postantibiotic creşte o dată cu creşterea concentraţiilor de antibiotic la care s-a făcut testarea. Astfel pentru tilmicosină şi tilozină, EPA este de peste 8 ore dacă expunerea s-a făcut la concentraţii de medicament de 8 ori mai mare decât CMI. Durata EPA scade dacă concentraţiile de antibiotice sunt mai mici (Diarra şi colab. 1999).

Unul dintre criteriile de superioritate ale imipenemei (şi în general a carbapenemelor) faţă de alte antibiotice beta-lactamice (care sunt bactericide) este acela că reduc eliberarea de LPS (Jackson si Kropp 1992, Trautman şi colab 1998).

Mecanismul de acţiune se consideră a fi legat de afinitatea pe care o au faţă de chimioterapicele beta-lactamice diferite PBP-uri.

Astfel, imipenema se leagă preferenţial de PBP-2.

Spre deosebire de alte beta-lactamine, şi ele antibiotice mult utilizate, cum sunt cefalosporinele din generaţia a patra, dar care se leagă preferenţial de PBP-3.

Meropenema (care are activitate crescută faţă de *P.aeruginosa* şi diferiţi bacili gram-negativi) se leagă şi ea, preferenţial de PBP-2 (Traumann şi colab. 1998, Pryka şi Haif. 1994)

Unele chinolone care sunt utilizate şi ele în infecţii cu germeni gram negativi determină şi ele o redusă eliberare de endotoxă in bacteriană. Comparând efectele imipenemei cu cele ceftazidimei, Prins şi colab. au constatat că simultan cu o eliberare diminuată de endotoxina imipenema produce ea şi o defervescenţă mult mai rapidă la pacienţii trataţi.

Tabelul nr. 5. Influenţa preincubării timp de 10 minute a *E.coli* şi *S.aureus* cu meropenemă şi imipenemă activităţii fagocitare a PMN (după Herrera-Insua şi colab.1997 modificat).

Bacteria	% din bacterii fagocitate			
	Perioada de incubare (h)	Control	Meropenemă	Imipenemă
E.coli	1	66, 12±1, 8	79, 6±1, 2 *	84, 87±1, 5*
	2	65, 33±0, 7	77±1, 3 *	85, 88±2, 1*
	3	71, 81±0, 9	70, 6±2, 3*	66, 11±3, 1
S.aureus	1	33, 3±3, 5	67, 64±1, 7*	65, 31±1, 3*
	2	24, 26±0, 8	67, 63±3, 2 *	74, 92±2, 6*
	3	27, 63±1, 8	57, 34±2, 1*	45, 11±1, 2*

∀ p<0, 05 faţă de control

Pe de altă parte, dacă aceste două carbapeneme sunt introduse în mediul în care se produce fagocitarea *E.coli* şi *S.aureus* de către PMN (deci fără ca bacteria să fi fost preincubată cu antibiotic), se constată un efect direct stimulator al

fagocitozei determinat de imipenemă şi carbapenemă.

Deci, există şi un efect direct asupra leucocitului al acestor două carbapeneme. Dintre toate antibioticele beta-lactamice numai imipenema şi meropenema ating concentraţii intraleucocitare semnificativ mai mari(de circa 3 ori) faţă de cele din mediul extracelular şi numai ele stimulează semnificativ funcţia fagocitară a PMN.

PROGRESE ÎN DOMENIUL FORMELOR FARMACEUTICE DE ADMINISTRARE

Forma farmaceutică de administrare trebuie să asigure cât mai buna biodisponibilitate şi concentraţie optimă de medicament la locul de acţiune.

Cedarea controlată a medicamentului este o cerinţă majoră a multor cazuri de farmacoterapie ca şi transportul cât mai ţintit şi selectiv al moleculelor active farmacodinamic la locul unde se găseşte agentul patogen sau procesul patogen.

S-au realizat noi forme medicamentoase şi s-au abordat noi căi de administrare a medicamentului.

Dintre acestea menţionăm:

- administrarea pe cale inhalatorie a unor chimioterapice antituberculoase incorporate in microparticule
- realizarea de forme medicamentoase cu cedare controlată utilizate in stomatologie (in terapia parodontitelor) cum ar fi:
  - fibre polimerice cu tetracicline
  - membrane biodegradabile cu diferite chimioterapice
  - etc.

Astfel, s-a constatat că de multe ori nici administrarea corectă pe cale orală a chimioterapiei antituberculoase nu poate realiza nivele de concentraţie tisulară capabile să omoare *mycobacteriile* aflate în macrofagele alveolare.

S-au realizat microparticule biodegradabile inhalabile conţinând izoniazida şi rifampicina (ambele chimioterapice antituberculoase de prima linie). Aceste microparticule realizate din poly-(D-L-acid lactic) sunt încorporate şi fagocitate de macrofagul alveolar şi permit atingerea în macrofag de concentraţii de chimioterapic suficiente pentru omorârea *Mycobacterium tuberculosis.*

În aceeaşi direcţie s-au obţinut rezultate cu microsfere din poly (lactidă-co-glicolidă) (PLGA) în care a fost introdusă rifampicina. Aceste sfere administrate prin insuflare sau nebulizare administrate în mod experimental au realizat concentraţii utile pentru omorârea *Mycobacterium tuberculosis* din macrofagele alveolare şi au redus in mod semnificativ numărul acestor bacterii din macrofage (Suarez si colab. 2001).

Unul din domeniile chimioterapiei în care s-au realizat forme medicamentoase ce conţin asocieri medicamentoase utile terapeutic este

chimioterapia antituberculoasă. S-au realizat produse ce conţin asocieri în proporţie fixă a chimioterapicelor antituberculoase. Un exemplu îl constituie produsul Myrin^{R}. Acest produs se prezintă sub formă de comprimate care conţin:
-300 mg etambutol, 75 mg izoniazidă, 150 mg rifampicină.

Doza de Myrin^{R} este de 3 cp/zi la pacienţi sub 50 kg si 4 cp/zi la pacienţi peste 50 kg.

Mai recent a fost realizat Myrin^{P}. Medicamentul asociază pe lângă cele 3 substanţe anterior arătate şi pirazinamida 300 mg/comprimat.

Aceste combinaţii in doze fixe (Fixed dose combination-FDC) au o serie de avantaje subliniate de specialiştii OMS. Aceste avantaje sunt:

- Este prevenită monoterapia tuberculozei care este in practic toate cazurile ineficientă;
- Prescrierea medicaţiei de către medic este simplificată;
- Creşte complianţa terapeutică;
- Se reduce instalarea rezistenţei bacteriene la chimioterapia antituberculoasă.

La aceasta se adaugă o probabilitate mult mai mică de subdozare a chimioterapicelor antituberculoase şi o reducere a utilizării inadecvate a acestor substanţe (şi mai ales a rifampicinei) in alte scopuri decit terapia antitbc (WHO 1999, WHO 1997).

Alte FDC recomandate de WHO în 1998 şi existente pe piaţă în diferite ţări sunt comprimate ce conţin:

- rifampicină 60 mg+isoniazidă 30 mg (de uz pediatric)
- rifampicină 60 mg + isoniazidă 30 mg + pirazinamidă 150 mg (uz pediatric)
- rifampicină 150 mg + isoniazidă 75 mg + etambutol 275 mg (pentru adulţi)

În China s-au raportat rezultate terapeutice remarcabile şi o bună complianţă terapeutică după utilizarea FDC **rifater/rifinah.**

De menţionat că, încă din anii 1980. s-au realizat forme medicamentoase (mai ales comprimate) cu asocieri în proporţie fixă între antituberculoasele din prima linie şi că OMS a recomandat utilizarea lor cât mai largă. Această farmacoterapie a fost aplicată în peste 40 de ţări.

Unul dintre progresele în utilizarea de noi forme medicamentoase în cedarea controlată a medicamentului îl constituie şi sistemele de eliberare controlată a doxiciclinei la nivelul colecţiilor periodontale la pacienţii cu periodontită.

Doxiciclina hiclat se găseşte în concentraţie de 8, 5% în aceste sisteme biodegradabile. Concentraţiile de doxiciclină ce se ating timp de 7 zile in fluidul crevicular şi în salivă sunt cu mult mai mari decât în cazul administrării pe cale internă a doxiciclinei.

Astfel după 25 de ore nivelul salivar al doxiciclinei in cazul pacienţilor ce au primit local doxiciclină hiclat 200 mg pe suport polimeric este de 20 μg/ml iar in cazul celor ce au primit aceeaşi doza pe cale internă concentraţia salivară a fost numai 0, 11 μg/ml (Stoller şi colab. 1998).

O altă formă de cedare controlată a unui chimioterapic antibacterian o constituie sistemele de cedare controlată a ciprofloxacinei incorporată in poliuretan. Se poate incorpora atât ciprofloxacina-HCl, cât şi complexul lipofilic ciprofloxacina-betaina.

Faptul este important deoarece împiedică colonizarea bacteriană a structurilor de poliuretan utilizate sub forma implantabilă şi permite şi eliberarea locală de ciprofloxacină în diferite ţesuturi (Schierholtz şi colab.1997).

RECONSIDERĂRI ÎN MODUL DE ADMINISTRARE AL CHIMIOTERAPICELOR

În această direcţie se caută o fundamentare cât mai exactă pe criterii ştiinţifice avându-se în vedere toate cunoştinţele în domeniu, inclusiv elementele legate de prezenţa şi mărimea efectului postantibiotic.

Una dintre aceste restructurări de viziune în ceea ce priveşte farmacoterapia, destul de mult discutată, este aceea a ritmului de administrare al aminoglicozidelor.

S-au adus argumente teoretice, dar şi date clinice în favoarea administrării la intervale de timp mai mari de 8 ore a aminoglicozidelor.

Între argumentele pentru o administrare la distanţe mai mari de 8 ore a dozelor de aminoglicozid menţionăm:

1) Gentamicina (dar şi alte aminoglicozide) au un efect postantibiotic important.

2) Reducerea nefrotoxicităţii atunci când se administează gentamicină 4-6 mg/kg o singură dată pe zi decât atunci când se administrează aceeaşi doză zilnică fracţionată în trei prize egale (una la 8 ore) (Gilbert 1991).

3) Există date clinice ce susţin existenţa unui efect terapeutic mai bun în cazul administrării unei doze zilnice mai mari de gentamicină (Cunningham 1996 şi colab.).

4) O anumită formă de rezistenţă bacteriană la aminoglicozide, şi anume **rezistenţa adaptativă temporară** (first exposure down-regulation), este crescută dacă bacteria este permanent în contact cu chimioterapicul la concentraţii în jur de CMI. Acest fapt pledează pentru distanţarea în timp a dozelor.

Analizând eficienţa terapiei la subiecţi umani cu vârste de peste 16 ani cu gentamicină 4 mg/zi în doză zilnică unică faţă de situaţia administrării aceleiaşi doze zilnice divizate în trei prize egale, una la 8 ore(Prins şi colb. 1993) s-au constatat rezultate clinice bune la 91% dintre pacienţii trataţi cu o singură doză zilnică, faţă de numai 78% dintre pacienţii care au primit doza zilnică divizată. Rezultate similare au obţinut şi Raz şi colab. 1995.

Alte aminoglicozide cum este amikacina, dar şi cefalosporine din generaţia a III-a cum este ceftriaxona sunt eficiente într-o singură doză zilnică chiar la pacienţii neutropenici cu PAE mai redus(Cunningham şi Humphreys 1996).Aceleaşi rezultate le-au dat şi administrările de ceftazidină, azlocilina la

pacienţi cu infecţii cu *P.aeruginosa.*

Este de remarcat că şi la pacienţii canceroşi neutropenici (cu efect postantibiotic mai redus) s-a observat că eficienţa administrării amikacinei în doză unică zilnică a fost egală cu eficienţa aceleiaşi doze zilnice fracţionată în două sau trei prize.

Dacă datele vizează eficienţa terapeutică cel puţin egală a aminoglicozidelor administrate în doză zilnică unică cu situaţia în care se fracţionează doza, în ceea ce priveşte reducerea nefrotoxicităţii prin administrare zilnică unică există încă relativ mai puţine date şi unii autori neagă reducera nefrotoxicităţii.

Teoretic vorbind, deoarece nefrotoxicitatea depinde de gradul de captarea cortical-renală a aminoglicozidului (Mattie şi colab. 1989) şi această captare este mai scăzută dacă se administrează o singură doză zilnică de aminoglicozid, nefrotoxicitatea ar trebui să fie cât mai redusă la pacienţii ce primesc o singură dată toată doza zilnică. Acest fapt este susţinut de Prins şi colab. 1993, dar şi alţi autori susţin că nu a putut fi evidenţiat. Influenţa acestui mod de administrare asupra ototoxicităţii este mai puţin cunoscută. **Considerăm însă că sunt suficiente argumente pentru administrarea o singură dată pe zi a dozelor de aminoglicozide sau cel puţin de gentamicină.**

Neutropenia evidenţiată la unii pacienţi nu poate diminua sau anula această indicaţie de administrare a dozei zilnice în priză unică. Rezistenţa adaptativă a multor bacterii la aminoglicozide se instalează imediat după o doză de medicament, dar este reversibilă peste un număr de ore, astfel încât după un interval de timp sensibilitatea bacteriei la aminoglicozide reapare.

Din această perspectivă o distanţă mai mare între dozele de chimioterapic aşa cum este situaţia când întreaga doză zilnică se administrează într-o singură priză este favorabilă pentru că fac ca sensibilitatea la chimioterapic să fie recăpătată astfel încât fiecare doză acţionează asupra unor bacterii cu sensibilitate apropiată de cea normală.

Un caz ilustrativ de rezistenţă adaptativă a bacteriei Gram negative la aminoglicozid este cazul *P.aeruginosa.*

Apare deci evident că în infecţiile cu *P.aeruginosa* indicaţia administrării aminoglicozidelor în doză zilnică nefracţionată se impune. O oarecare rezistenţă adaptativă a aceleiaşi bacterii s-a observat şi la quinolone fără a fi un fenomen absolut identic cu cel obţinut la aminoglicozide (Gould şi colab. 1990).

Baclay şi Begg 2001 au arătat că rezistenţa adaptativă indusă de gentamicină nu modifică efectul antibacterian al unor beta-lactamice cum sunt piperacilina, imipenemă, ceftazidină.

Administrarea o singură dată a întregii doze zilnice de aminoglicozid este susţinută şi de observaţia că rezistenţa adaptativă maximă a *P.aeruginosa* implicat în procese patologice severe cum sunt endocarditele se întâlneşte la 8-16 ore după administrarea amikacinei, o spaţiere la 24 de ore a administrărilor ducând la suprimarea sau diminuarea acestui fenomen (Xiong şi colab. 1997).

, Mecanismul rezistenței adaptative la aminoglicozide nu este pe deplin elucidat, dar o serie de autori cum ar fi Barclay şi Begg 2001, Jackson şi colab.1990 şi alții susțin că el ar fi un mod esențial de reducere a permeabilității membranei bacteriene şi de diminuare a permeabilității chimioterapicului prin peretele bacterian şi prin membrana celulei bacteriene. Diminuarea efectului bactericid ar reflecta limitările ce apar şi capacitățile de transport activ al aminoglicozidului dinspre exteriorul bacteriei înspre interior.

O perioadă nu s-a acordat atenție concentrațiilor scăzute, subinhibitoare de chimioterapice.

S-a observat însă că şi concentrațiile de chimioterapice mai reduse decât CMI au influențe asupra bacteriilor ce nu pot fi subestimate.

În concentrații sub CMI a chimioterapicul antibacterian apar:

- modificări morfologice bacteriene;
- modificări funcționale bacteriene;
- modificări în raporturile ce se stabilesc între bacterie şi unele celule ale organismului uman.

Între modificările morfologice ce apar la concentrații 1/2-1/3 din CMI menționăm apariția de filamente formate din bacterii şi care apar la 100μm lungime. Formarea de către stafilococi de clustere (mai ales sub acțiunea antibioticelor beta-lactamice).

Aderența bacteriană la diferiți saprofiți scade sub influența concentrațiilor scăzute de chimioterapic, iar fagocitoza bacteriilor de către PMN devine mai eficientă (Adinolfi şi Bouventre 1980).

Numeroase chimioterapice antibacteriene mai noi (imipenema) sau mai vechi (cloramfenicol, gentamicina, cefalotina, polimixina B, tobramicina etc) la concentrații sub CMI reduc aderența bacteriilor de diferite suprafețe.

Roxitromicina şi eritromicina la ¼ din CMI cresc în mod semnificativ captarea de către PMN a unor bacterii (Pasenal şi colab. 1990, Lorian şi colab. 1993).

În concentrații sub CMI, ciprofloxacina, unele antibiotice beta-lactamice şi unele aminoglicozide reduc producția de exotoxină A şi de unele enzime cum este elastaza la *P.aeruginosa,* reducând astfel virulența (Lorian 1993) .

Pe animalul de experiență, concentrațiile sub CMI au prelungit viața animalelor cu endocardită experimentală.

Există şi date clinice ce atestă că şi la concentrații sub CMI unele chimioterapice antibacteriene au un efect terapeutic favorabil în unele infecții.

Un alt aspect este cel observat încă de multă vreme, când s-a constat că expunerea *E.coli* şi *S.aureus* scurte perioade de timp la concentrații mari de chimioterapic antibacterian creşte susceptibilitatea bacteriană la acțiunea leucocitelor umane. Acest fapt pledează pentru administrarea în doză unică zilnică a aminoglicozidelor, atingându-se astfel un Cmax plasmatic superior celui obținut prin fracționarea în trei prize a aceleiaşi doze.

Fagocitarea bacteriilor este crescută în condițiile expunerii, chiar scurte,

a germenilor la concentrații ridicate de chimioterapic.

Efectul postantibiotic crește susceptibilitatea bacteriilor intracelulare la mecanismele de distrucție a acestora de către leucocite.

Există date din ultimii ani care susțin, în baza unor meta analize, că nefrotoxicitatea la gentamicină scade cu 13 până la 28% dacă acest medicament se administrează o singură dată în 24 ore (Alvarez-Lerma și colab. 2001, Rodvold și colab. 1997).

Asociațiile raționale de chimioterapice antibacteriene s-au dovedit a fi în mod sigur benefice terapeutic și considerăm că reprezintă o cale de progres în acest domeniu. Există argumente ce arată că asocierile raționale fundamentate științific de chimioterapice antibacteriene permit în multe cazuri:

a) instalarea mai lentă a rezistenței bacteriene
b) potențarea reciprocă a acțiunii antibacteriene
c) reducerea dozelor din fiecare chimioterapic

Prezentăm în continuare unele dintre asociațiile de chimioterapice antibacteriene care s-au impus în ultimii ani sau se utilizează tot mai frecvent (Tablelul nr. 6)

Tabelul nr. 6. Noi asociații intre chimioterapice antibacteriene

CIPROFLOXACINA	+ CEFOPERAZONA + MEROPENEMA + CEFTRIAXONA (Isenberg si colab. 1999)
LEVOFLOXACINA	+ IMIPENEMA
TROVAFLOXACINA	+ IMIPENEMA + CEFTRIAXONA

Acțiunea sinergică a fluorochinolonelor cu AZTREONAM, AZLOCILINA, unele cefalosporine, IMIPENEMA (ex. in infecții cu *P. aeruginosa* sau *B. cepacia*)

Cele mai recomandate asocieri dintre penicilinele de semisinteză și inhibitorii de beta-lactamază sunt:

PIPERACILINA+TAZOLACTAMA(3g/0, 375g)
TICARCILINA+CLAVULANAT (Timentin®)
AMPICILINA+SULBACTAMA
AMOXICILINA+SULBACTAMA

Între asocierile terapeutice care sunt tot mai recomandate, mai menționăm:

-IMIPENEMA + AMIKACINĂ în nocardioze rezistente la sulfamide sau cotrimoxazol (Van Graewitz 2001).

-AMIKACINA + COTRIMOXAZOL în infecții cu *Actinomadma* (Wuest și colab.1990).

Au apărut posibilităţi de asociere a linezolidului cu promiţătoare efecte terapeutice în infecţii cu bacterii G+ multi-rezistente. Dintre acestea menţionăm:

-LINEZOLID+SINERCID (Hidai 2001)

-LINEZOLID+DOXICICLINĂ (Allen şi colab.2002)

Această din urmă asociere este considerată eficientă faţă de *E.faecalis* şi *E.feacium* vancomicino-rezistenţi.

Una dintre asocierile medicamentoase tot mai mult utilizate în practică şi care considerăm că sunt deosebit de benefice în terapia unor infecţii severe sunt cele dintre **glicopeptide şi beta-lactame.**

Îndeosebi în infecţii produse de enterococi aceste asocieri s-au dovedit deosebit de eficiente.(Tabelul nr. 7 după Ravizzola şi colab. 1997)

Tabel nr. 7. Influenţa asocierii unor antibiotice beta-lactamice cu glicopeptide asupra CMI faţă de *E.faecalis* (după Ravizzola şi colab. 1997 modificat).

Antibioticul	*E.faecalis* 8283		
	CMI	Teicoplanină 32μg/ml	Vancomicină 256 μg/ml
Ampicilina	2	1+1	1+1
Mezlocilina	2	0, 5+0, 5	2+2
Piperacilină	8	2+2	2+2
Cefalexină	256	32+32	64+64
Cefotaxină	512	1+1	2+2
Ceftriaxina	512	2+2	4+4
Ceftazidina	512	8+8	16+2
Cefuroxină	512	4+4	8+1
Imipenemă	2	1+1	2+2
Cefoxitina	512	64+8	128+128
Cefotetan	> 1024	32±16	128+128

Scăderea CMI în cazul unora dintre beta-lactamele asociate cu glicopeptide este spectaculoasă.

Sinergia poate fi potenţial explicată (conform Ravizzola şi colab. 1997) prin creşterea afinităţii beta-lactamelor faţă de PBP1, PBP2, PBP3 în cazul administrării concomitente cu glicopeptide.

Cele mai importante avantaje ale asocierii β-lactamice cu inhibitori de beta-lactamază sunt:

A) posibilitatea utilizării de beta-lactamice cu spectru larg, dar sensibile la β-lactamaze;
B) creşterea capacităţii de fagocitare a leucocitelor;
C) o perioadă mai lungă de susceptibilitate a bacteriei la concentraţii mici de antibiotic beta-lactamic;
D) post-β-lactamase inhibition effect;
E) reluarea creşterii bacteriilor rezistente la ampicilină sau amoxicilină este prevenită mai multe ore după expunerea la inhibitorul de beta-lactamază.

GRUPE NON-ANTIBIOTICE DE MEDICAMENT CU INFLUENȚE ASUPRA METABOLISMULUI ȘI VIABILITĂȚII BACTERIENE

Există un număr important de medicamente din grupe diferite utilizate în diferite domenii ale farmacoterapiei, medicamente care au și o acțiune antibacteriană deloc neglijabilă. Principalele medicamente cunoscute din aceste grupe le enumerăm în continuare:

- Antiinflamatoare nesteroidale;
- Psihotrope – ex. inhibitori de re-uptake al serotoninei;
- Blocanți ai canalelor de calciu;
- Inhibitori ai pompei de protoni;
- Unii inhibitori de COX-1 și COX-2 (antiinflamatoare nesteroidale);
- Anestezice locale;
- Mucolitice.

Analizând acțiunea antibacteriană a diclofenacului, Dastidar și colab. 2000 au constatat că acest antiinflamator nesteroidal are un potențial atât contra unor bacterii Gram+ cât și a altora Gram-. În infecția experimentală cu *Salmonella typhymurium* NCTLH1, doze de 1, 5-3 μg/g (la soarece) protejează animalul.

Efectele antibacteriene (mai slabe decât ale diclofenacului) au și alte antiinflamatoare cum sunt acidul mefenamic și derivații săi, naproxenul și piroxicamul (Annadurai și colab. 1998).

Diclofenacul stimulează și clearance-ul bacteriilor patogene din ficat și splină.

O problemă importantă este mecanismul prin care diclofenacul și alte antiinflamatoare nesteroidale pot acționa antibacterian. Se știe că antiinflamatoarele nesteroidale au ca mecanism principal de acțiune inhibarea ciclooxigenazelor (COX_1 și COX_2), izoenzime implicate în sinteza prostaglandinelor și a altor icosanoizi ciclooxigenazici.

Antiinflamatoarele mai sus menționate inhibă predominant COX-1, adică ciclooxigenaza constitutivă și mai puțin COX-2 (ciclooxigenaza inducibilă).

S-a dovedit că diclofenacul scade cantitatea de ADN bacterian și că are prin acest mecanism o acțiune bactericidă fără a degrada însă molecula de ADN.

CMI față de *S.aureus* NCTC 6571 a fost pentru diclofenac de 50 mg/l. Acțiunea bactericidă a diclofenacului față de *S.aureus* este arătată în Fig. nr. 3.

Fig. nr. 3. Acţiunea bactericidă a diclofenacului (100 mg/l) asupra *Stafilococus aureus* NCTC 6571 (Dastidar si colab, 2000)

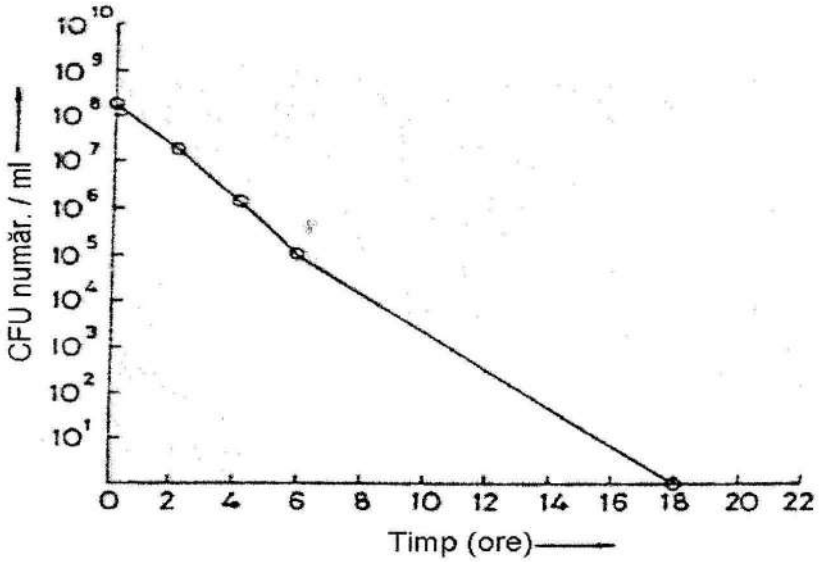


Fig. nr. 2 pag. 38 - Acţiunea bactericidă a diclofenacului (Dastidar & col. 2002)

Unele medicamente psihotrope au şi ele acţiune antibacteriană semnificativă. Încă din 1959 s-a descris o anumită activitate antibacteriană a unui neuroleptic clasic aşa cum este clorpromazina.

Mai intensă şi mai mult studiată se dovedeşte a fi însă acţiunea antibacteriană a psihotropelor din grupa inhibitorilor recaptării serotoninei (Munoz-Belido şi colab. 2000). Acestea sunt antidepresive valoroase, utile în terapia depresiei majore. Ele cresc cantitatea de serotonină din sinapsele serotoninergice centrale.

S-a dovedit că sertralina şi alte substanţe din acestă grupă sunt active faţă de un număr important de bacterii (Tabel nr 8 după Munoz-Bellido şi colab. 2000)

De asemenea, aceste psihotrope dacă sunt asociate cu unele chimioterapice antibacteriene potenţează acţiunea antibacteriană a acestora şi duc la scăderea CMI-ului (Tabel nr. 9 după Munoz-Bellido şi colab. 2000 modificat).

Tabel nr. 8 Efectul antibacterian al sertralinei, al unui antidepresiv triciclic (clomipramina) şi al clorpromazinei (neuroleptic fenotiazinic) (după Munoz-Bellido şi colab. 2000, modificat)

Microorganismul	Sertralina		Clomipramina		Clorpromazina	
	CMI mg/ml		CMI mg/ml		CMI mg/ml	
	50	90	50	90	50	90
E.coli	64	128	256	256	>512	>512
K. pneumoniae	64	128	256	>512	>512	>512
E.cloacae	64	64	>512	>512	>512	>512
C.freundi	8	16	256	512	256	256
H.influenzae	16	32	4	16	128	128
M.catarrhalis	4	16	8	16	>512	>512
S.aureus	8	16	32	128	64	64
S.epidermitis	8	16	128	128	128	128
S.pneumoniae	64	64	32	128	128	256
S.pyogenes	32	64	32	128	64	128
E.faecalis	8	16	128	128	128	128
C.difficile	64	64	256	512	512	512
B.fragillis	32	64	512	512	512	512
Prevotella spp.	16	32	128	256	128	512
Brucella spp	16	16	32	32	256	512

Unele dintre aceste acţiuni antibacteriene ale inhibitorilor recaptării serotoninei (SSRAs) sint deosebit de semnificative, cum este de exemplu acţiunea anti *Brucella.*

Tabel nr.9 Activitatea antibacteriană a unor psihotrope administrate singure sau asociate cu chimioterapice antibacteriene (faţă de *Corynebacterium* grupul D 2) (după Munoz-Bellido şi colab. 2000, modificat)

Substanta	CMI mg/l	
	50	90
Tetraciclina	16	32
Ciprofloxacina	8	64
Clorpromazina	32	64
Fluoxetina	32	32
Paroxetina	8	32
Sertralina	8	8
Tetraciclina + Sertralina 1/2CMI	8	16
Tetraciclina + Sertralina 1/16CMI	8	16
Ciprofloxacina + Sertralina 1/2CMI	0, 2	4
Ciprofloxacina + Sertralina 1/16CMI	1	4
Ciprofloxacina + Sertralina 1/128CMI	1	4

Utilă este şi reducerea CMI-ului pentru tetracicline şi quinolone atunci când sunt asociate chiar cu doze mici de inhibitori ai recaptării serotoninei. În general CMI-ul este redus cu circa 50% în cazul acestor asocieri ceea ce ar putea avea o reală importanţă terapeutică in unele situaţii.

Probabil că blocarea pompelor de eflux al unor chimioterapice din bacterii este cel mai important mecanism prin care aceste antidepresive scad CMI-ul unor antibiotice antibacteriene cu care sunt asociate.

De menţionat că la doze uzuale sertralina atinge uşor în organism concentraţiile necesare fenomenului de potenţare a acţiunii chimioterapicelor.

INTERACŢIUNI ALE CHIMIOTERAPICELOR BACTERIENE CU STRUCTURILE ORGANISMUL UMAN

Se acordă o atenţie sporită *interacţiunilor cu organismul uman* pe care le au chimioterapicele antibacteriene.

Astfel, un aspect cu multiple consecinţe îl constituie interacţiunea aminoglicozidelor cu fosfolipidele din membrana celulară umană şi cu cele din membrana unor organite celulare.

Aminoglicozidele se acumulează în lizozomii din celulele tubului proximal renal şi produc o scădere a metabolismului fosfolipidic la acest nivel (inhibiţia activităţii fosfolipazei A2, sfingomielinazei şi fosfatidilinozitol fosfolipazei C), ceea ce duce la apariţia necrozei tubulare .

Mărirea diametrului lizozomal şi acumularea de sfingomielina precede apariţia necrozei tubulare.

Acidul poliaspartic protejează faţă de apariţia leziunilor lizozomale induse de aminoglicozide protejează şi faţă de nefrotoxicitatea indusă de aceste chimioterapice (Gilbert si colab. 1989, Kishore şi Tulkens 1989). Inhibarea activităţii fosfolipazelor lizozomale de către aminoglicozide este considerată ca fiind importantă, dacă nu chiar esenţială nefrotoxicitatea acestor substanţe (Mingeot – Leclercque şi colab 1990). S-a demonstrat că activitatea fosfolipazelor A1 şi A2 este crescută dacă în membrana bistratificată fosfolipidică este inclus fosfatidilinozitolul. Gentamicina se leagă de fosfatidilinozitol şi pe această cale scade activitatea fosfolipazei A1 şi A2 (Mingeot-Leclercque şi colab. 1990).

S-a constatat că nu numai gentamicina, dar şi alte aminoglicozide reduc catabolismul fosfolipidelor la nivelul lizozomilor din celulele tubului renal şi determină o acumulare intralizozomală de lipide polare nedegradate de fosfolipaze (corpi mieloizi), ceea ce se consideră a fi un mecanism molecular major implicat în nefrotoxicitate.

Pe lângă aceasta, aminoglicozidele se acumulează în lizozomii celulelor tubului contort proximal.

Nu toate aminoglicozidele inhibă în mod egal fosfolipazele lizozomale tubulare. Amikacina şi streptomicina de exemplu inhibă activitatea acestor enzime mai slab decât gentamicina.

Unul dintre principalele moduri prin care organismul uman interacţionează cu diferite chimioterapice este metabolizarea acestor chimioterapice. Unul dintre progresele înregistrate în domeniul metabolizării chimioterapicelor este desigur precizarea rolului citocromului P-450 in acest proces.

Citocromul P-450 este format din mai multe familii enzimatice, constituite la rândul lor din subfamilii. Cea mai bogată reprezentare a acestui complex enzimatic este cea hepatică; el este prezent si la nivel renal, pulmonar, placentar, intestinal etc (Schenkman şi Greim 1993).

La om principalele familii enzimatice implicate în metabolizarea medicamentelor sunt CYP 1, CYP 2 şi CYP 3, iar principalele subfamilii sunt: CYP 1A, CYP 2 Asi CYP 2B, CYP 2C, CYP 2 D, CYP 2E şi CYP 3A (Taburet şi Furlan 2000).

Toate enzimele din complexul citocromului P-450 sunt implicate în reacţii de oxidare.

Unele dintre chimioterapicele antibacteriene larg utilizate sunt metabolizate de către citocromul P450 (Tabel nr. 10 după Taburet şi Furlan 2000).

Tabel nr. 10. Implicaţii ale citocromului P450 în metabolizarea unor chimioterapice antibacteriene (după Taburet şi Furlan 2000, modificat).

Grupa de chimioterapice antibacteriene	Medicamentul	Fracţia metabolizată %	Subfamilia CYP implicată
Macrolide	Eritromicina	90	CYP 3A
	Claritromicina	>70	CYP 3A
	Azitromicina	30-35	CYP 3A
	Josamicina	40-50	CYP 3A
	Roxitromicina	50	CYP 3A
Fluorochinolone	Ciprofloxacina	20	
Rifamicine	Rifabutina	>90	CYP 3A
	Rifampicina	60-65	CYP 3A

La om CYP 3A (cu cele două izoforme CYP 3A4si CYP 3A5) şi CYP 2C cu izoformele (2C8, 2C9 şi 2C19) sunt cele mai abundente).

Există substanţe ce se comportă ca structuri sau ca inhibitori ai activităţii enzimatice a unor enzime din complexul citocromului P-450

Astfel, este posibilă influenţarea vitezei şi proporţiei în care sunt metabolizate unele chimioterapice antibacteriene.

De exemplu, hidrocarburile policiclice conţinute în fumul de ţigară sunt inductori puternici ai CYP 1A2, iar consumul cronic de etanol este inductor pentru CYP2E1.

Izoniazida este un inductor specific al CYP2E1.

Alte substanţe sunt inhibitoare ale activităţii acestor enzime. De exemplu, chinidina inhibă CYP2D6, iar un metabolit nitrozo- al eritromicinei formează un complex stabil cu CYP 3A, împiedecând reacţiile de oxidare.

În consecință, interacțiunea chimioterapicelor antibacteriene cu sistemul citocrom P-450 este una foarte importantă și diferite asociații medicamentoase pot modifica substanțial parametrii farmacocinetici ai multor medicamente antibacteriene prin influențarea, într-un sens sau altul, a activității unor enzime din complexul citocromului P-450.

Între interacțiunile dintre chimioterapice și celulele organismului uman, una dintre cele mai importante este inhibiția unora dintre enzimele umane de către chimioterapicele antibacteriene.

Astfel unele beta-lactame au efecte de inhibitori de proteaze, precum și inhibitori ai unor enzime hidrolitice celulare.

Una dintre interacțiunile importante ale chimioterapicelor cu structurile celulei umane îl constitue acțiunea unor beta-lactame de a se lega și inhiba ireversibil enzime cum sunt **elastaza** și **fosfolipaza A2.** Inhibarea **elastazei leucocitare** este importantă pentru activitatea crescută a acestei enzime, este implicată în distrucția fibrelor elastice din focarul de inflamație indus de bacterii, iar în afecțiuni cum sunt artrita reumatoidă, emfizemul pulmonar activitatea acestei enzime este direct responsabilă de o parte din leziunile ce se produc.

Unele modificări de structură a cefalosporinelor pot influența major capacitatea de a inhiba elastaza leucocitară. Astfel, introducerea unui nucleu benzenic în partea esterică a moleculei crește de 10 ori această capacitate inhibitoare, pe când introducerea unei grupări carboxilice la atomul C4 reduce tot de circa 10 ori activitatea inhibitoare.

Reducerea activității acestei elastaze reduce o parte dintre leziunile microvasculare care sunt în mare măsură eliberări crescute de elastază și alte proteaze din polimorfonucleare în focarul inflamator.

Doherty și colab. 1986 au arătat că și unele cefalosporine inhibă elastaza leucocitară umană, reducând distrucția fibrelor elastice (proces important în patogenia mai multor afecțiuni). Cefalosporinele cu substituienți în poziția 7α sunt potenți inhibitori ai acestei elastaze pe când izomerii corespunzători 7β nu au decât o acțiune inhibitoare nesemnificativă.

Unele beta-lactame monocilice inhibă sinteza de elastază, ceea ce ar putea fi extrem de important în terapia unor inflamații bacteriene în care degradarea fibrelor elastice de către elastaze este deosebit de importantă în patogenia bolii (Wilemonth și colab. 1999).

Una dintre interacțiunile dintre chimioterapicele antibacteriene și celulele organismului uman, care pare a avea implicații deosebite în clinică, este interacțiunea dintre chinolone și receptorii GABA.

S-a constatat că acest grup de chimioterapice are o influență notabilă asupra activității SNC.

Akaham și colab.1994 și alții au arătat că fluorochinolonele inhibă legarea GABA de receptorii săi de la nivel neuronal.

Acest fapt determină producerea unei excitații în SNC (deoarece acțiunea

sedativă şi inhibitoare a GABA este diminuată).

Unul dintre cele mai importante efecte este cel epileptogen, de precipitare a manifestărilor de tip epileptic şi scădere a pragului convulsivant.

S-au stabilit unele corelaţii structură chimică, acţiune farmacodinamică în cazul influenţei chinolonelor asupra receptorilor GABA A.

Introducerea unei grupări metil la gruparea amino secundară diminuă inhibarea de către chinolone a legării GABA de receptorii săi.

Terw şi colab. 1998 (citat de Taylor şi colab.1999) arată că un proces de inhibiţie asemănător induc beta-lactamele monociclice şi în cazul fosfolipazei A2. Această enzimă este esenţială pentru eliberarea de acizi graşi precursori ai icosanoizilor din fosfolipide. Prin inhibarea ei se reduce sinteza de icosanoizi proinflamatori şi este diminuat procesul inflamator indus de bacteriile patogene.

Acţiunea chimioterapicelor antibacteriene asupra funcţionării celulelor organismului uman şi, mai ales, evidenţierii acelor acţiuni care ar putea reprezenta un mecanism de acţiune patogenic, adică ar interfera cu unul sau altul dintre lanţurile patogenice implicate în producerea bolii.

Astfel se acordă o atenţie sporită acţiunii unor chimioterapice asupra unor procese patogene din cadrul inflamaţiei.

MONITORIZAREA TERAPEUTICĂ A MEDICAMENTULUI

Un concept care se impune este acela de **monitorizare terapeutică a medicamentului** (Therapeutic drug monitoring TDM).

Acest concept este complex, presupunând pentru punerea lui în practică o conlucrare permanentă între medicul terapeut, farmacologul chimician şi specialistul de laborator.

Scopul declarat al aplicării TDM este **optimizarea farmacoterapiei clinice prin creşterea la maxim a eficienţei terapeutice şi reducerea la minim a efectelor secundare şi adverse sau toxice ale medicaţiei.**

Unul dintre domeniile chimioterapiei în care acest concept se aplică cu succes şi cu rezultate notabile este cel al chimioterapiei antituberculoase.

Redăm după Yew 2001 potenţiala utilizare a acestui concept în terapia antituberculoasă:

1) optimizarea terapiei pentru obţinerea succesului terapeutic în diferite cazuri concrete;

2) managementul interacţiunilor de tip farmacocinetic dintre medicamente;

3) cunoaşterea interacţiunii dintre medicament şi organul bolnav;

4) evaluarea unor forme de condiţionare a medicaţiei antituberculoase;

5) cunoaşterea influenţei dietei şi a unor medicamente administrate concomitent cu terapia antituberculoasă asupra biodisponibilităţii medicamentelor utilizate în terapia tuberculozei;

6) monitorizarea complianţei terapeutice în cazul acestei terapii.

Dintre parametrii esenţiali a fi determinaţi pentru realizarea TDM sunt:

- raportul dintre concentrația serică maximă (Cmax) și concentrația minimă inhibitoare(CMI)

Cmax/CMI

- determinarea ariei de sub curbă (area under curve) (AUC) și certitudinea că AUC>CMI;

- determinarea timpului cât concentrația se menține mai mare decât CMI

Toți acești parametri sunt foarte importanți pentru toate chimioterapicele, dar ponderea lor în evaluarea famacoterapiei variază de la medicament la medicament.

Astfel, pentru substanțe cu o bună penetrare intracelulară, cum sunt aminoglicozidele și chinolonele, primii doi parametrii sunt mai importanți pe când pentru substanțe ce acționează pe peretele bacterian (ex. cicloserina), ultimul parametru este considerat crucial (Yew 2001).

Aplicarea TDM a permis reducerea efectelor secundare și adverse sau toxice a unor medicamente.

De exemplu s-a constatat că prin sumarea concentrațiilor serice maxime ale cicloserinei și a floxacinei apare **o creștere importantă de neurotoxicitate** și s-a considerat că dozele de cicloserină trebuie să fie mai distanțate în timp.

În cazul meningitei tbc s-a demonstrat că pirazinamida penetrează mai bine în LCR decât rifampicina etc.

Rifampicina scade semnificativ concentrația serică a multor medicamente antivirale recomandate în terapia anti HIV (prin inducție enzimatică la nivelul CYP3A și grăbirea metabolizării și, prin urmare, se recomandă a nu se administra la pacienții cu infecții cu HIV care au și tuberculoză).

Una dintre ideile importante ce se impun este aceea a **antimicrobioterapiei secvențiale.** Sintagma de antimicrobioterapie secvențială definește înlocuirea administrării pe cale parenterală a unui chimioterapic antibacterian cu administrarea aceleiași substanțe pe cale internă (per os) (Drew 1998).

Termenul are un conținut noțional apropiat de cel de "Swith therapy" care se utilizează pentru înlocuirea chimioterapiei administrate pe cale parenterală cu medicamente din aceeași grupă, dar care se pot administra pe cale orală. Un element de bază pentru traducerea în practica terapeutică a celor două noțiuni este *eficacitatea terapeutică comparabilă* a terapiei date pe cale internă cu cea a farmacoterapiei parenterale.

Problema utilizării terapiei secvențiale este complexă. Aplicarea ei în practică ține în mod esențial de existența unor chimioterapice antibacteriene (și nu numai) care să aibă o farmacocinetică care să le permită o bună biodisponibilitate după administrarea orală și atingerea unei concentrații suficiente în țesutul țintă.

O a doua problemă este cea a costului îngrijirii spitalicești și a personalului care trebuie să administreze pe cale parenterală chimioterapia respectivă.

O a treia problemă este raportul cost/beneficiu terapeutic în ambele tipuri de farmacoterapie antibacteriană. În sfârșit, nu poate fi neglijată suferința pacientului și acceptabilitatea mai redusă a unei terapii pe cale parenterală

În condiţiile în care în SUA şi Canada numeroase spitale au arătat că între 13 şi 40% din totalul cheltuielilor făcute cu medicamente în 1996 se referă la medicaţia antibacteriană, optimizarea acestuia devine o importantă problemă şi a managementului unităţilor medicale (Rifenberg şi colab. 1996). Centrul Medical al Universităţii Duke a elaborat un set de criterii recomandate, vizând eligibilitatea pacienţilor pentru a fi selectaţi pentru chimioterapia antibacteriană, dar şi antivirală, orală. Prezentăm aceste criterii în continuare:

1. Lipsa indicaţiilor expuse pentru o chimioterapie parenterală.

Aceste indicaţii expuse includ de exemplu: pacienţii neutropenici, imunocopromişi, endocardite, şoc toxicoseptic, infecţii diseminate osteomielite.

2. Infecţiile pentru care se recomandă chimioterapie orală nu sunt considerate ca punând imediat viaţa în pericol.

3. Pacientul afebril sau subfebril.

4. Globule albe şi formula leucocitară normală.

5. Situaţia gastrointestinală permite o absorbţie normală a chimioterapicului (absenţa vomei obstacolelor în tubul digestiv etc.).

6. Pacientul să fie capabil să primească terapie şi nutriţie pe cale digestivă sau terapie enterală pe sondă concomitent cu chimioterapia antibacteriană.

Considerăm că, pentru o terapie secvenţială şi utilizarea pe scară cât mai largă posibil a administrării chimioterapicelor pe cale orală, trebuie să fie o preocupare permanentă, fără a se exclude terapia parenterală acolo unde ea este indicată.

În încheiere este de remarcat, aşa după cum arată şi alţi autori (Yew 2001), că şi în chimioterapia antibacteriană se impune **monitorizarea utilizării terapeutice a medicamentului,** proces prin care se urmăreşte **maximizarea eficacităţii terapeutice şi reducerea la minim a efectelor secundare şi adverse sau/şi toxice ale medicamentelor.**

Bibliografie

1. ADINOLFI L.E., BONVENTRE P.F., -Enhanced phagocytosis Killing and serum sensitivity of Escherichia coli and Staphylococcus aureus treated with onle-MICS of imipenem Antimicrob. Agents. Chemotherapy 1998, 32, p. 1012-1018.
2. AKANANE K., KIMURA Y., TSUTUMI Y., HAYAKAWA I. – Possible Intermolecular interactions between Quinolones and Biphenylactic acid inhibits gama-aminobutiric acid receptor sites – Antimicrob. Agents. Chemother. 1994, 38, p. 2323-2329
3. ALLEN G.P., CHA R., RYBAK M.J.-*In vitro* activities of quinupristin-dalfopristin and cefepime, alone and in combination with varions antimicrobials, against multidrug resistant staphylococci and enterococci an *in vitro* pharmacodynamic model, Antimicrob. Agents, Chimioter., 2002, 46, p. 2606-2612.
4. ALLEN N.E., LE TOURNEAU D.L., HOBBS N.JR. – The role of hydrophobic side chains as determinants of antibacterial activity of semisynthetic glycopeptide antibiotics, Antibiotics 1997, 50, p.677-684
5. ALVAREZ-LERMA F., PALOMAR M., GRAN S., -Management of Antimicrobial use in the

intensive care unit, Drugs 2001, 61 p.763-775
6. ANNADURAI S., BASER S., RAY S., DASTIDAR S.G., CHAKRABARTY A.N., Antibacterial activity of the antiinflamatory agent diclofenac sodium, Indian J., Exp. Biol. 1998, 36, p.86-90
7. ARCAMONE F.M., ALTAMURA M., PERRETTA E., CRETA A., MANZINI S., POMA D., SALIMBENI A., TRIOLA A., MAGGI C.A. – Synthesis and biological activity of the penem antibiotic MEN 10700 and its orally absorbed ester MEN 11505, J.Antibiot , (Tokyo) 2000, 53, *p.*1086-1095
8. ARMIEL C-Les cytokines en therapeutique anti-infectiense, Lett.Infectiol.2000, XV p.383-404
9. BARCLAY M.L., BEGG. EJ., - Aminoglycoside Adaptative Resistance, Drugs 2001, 61 p.713-721
10. BIBEL D.J., ALY R., SHINEFIELD H.R., -Antimircobial activity of sphingosines, J.Investig.Dermatol.1992, 98, p.269-273.
11. BUNDTZEN R.W., GERBER A.U., COHN D.L., CRAIG W.A., -Potantisitic supressiv of bacterial growth, Rev.Infect.Dis.1981, 3 p. 28-37
12. BURMAN W.J., GALLICANO K., PELOQUIN C. – Comparative pharmacokinetics and pharmacodynamics of the rifamycin antibacterials, Clin Pharmacokinet. 2001, 40, p. 327-341
13. BUTTS N., -Intracellular Concentrations of Antibacterial Agents and Related Clinical Implications , Chim.Pharmacokinet., 1994, 27, p.63-84
14. CROSS A.S., OPAL S.M. – Endotoxin's role in Gram-negative bacterial infection, Curr. Opin. Infect.Dis. 1995, 8, p.156-163
15. CUMINGHAM R., HUMPHREYS H., -Once-daily gentamicin:transeasing theory into practice, Eur. *J.Chim.Pharmacol.*1996, 50, p.151-154
16. DASTIKAR S.G., GANGULY K., CHANDIHURI K., CHAKRABARTY A.N. – The antibacterial action of diclofenac shown by inhibition of DNA synthesis, International J. Antimicrob. Agents, 2000, 14, p.249-251
17. DESIDERIO J.V., CAMPBELL S.G., -Liposome-encapsulated cephalothin in the treatment of experimental Salmonellosis. Reticuloentdothelial.Sac1983, 34, p.279-287S.
18. DIARRA M.S., MALOUIN P., JAQUES M.-Postantibiotic and physiological effects of tilmicosin, tylosin and apramycin at sublminimal and suprainhibitory concentration on swine and bovine respiratory tract pathogens.Int.J.Antimicrob.Agents.1999, 12, p.229-237
19. DIETZE R., TEIXEIRA L., ROCHA L.M., PALACI M., JOHNOSON J.L., WELLS C., ROSE L., EISENACH K., ELLNER J.J. – Safety and bactericidal activity of rifalazil in patients with pulmonary tuberculosis, Antimicrob. Agents. Chemother. 2001, 45, p.1972-1976
20. DOHERTY J.B., ASHE B.M., ARGENBRIGHT L.W., BARKER P.L., BONNEY R.Y. – Cephalosporin antibiotics can be modified to inhibit human leukocyte elastase, *Nature* 1986, 302, p.192-194
21. DREV R.H.., -Programs Promoting Timely Sequential Antimicrobial therapy an American Perspective, J.Infection 1998, 37, p.3-9
22. EASMON C.S.F.Interaction of meropenem with humoral and fagocytic defences. J.Antimicrob.Chemother. 1989, 24, Suppl A, p.259-264
23. FUENTES F., MARTIN M.M., IZQUIERDA J., GOMEZ-LUS M.L., PRIETO J., -*In vivo* and *in vitro* study of several pharmacodynamic effects of meropenema, Scand. J. Infect. Dis. 1995, 27 p. 469-474.
24. GILBERT D.N., WOODS C.A., KOHLHHELP S.J., KOHNEN P.W., HOUGHTON D.C., FINKBEINER H.C., BENNET W.M. – Poliaspartic acid prevents experimental aminoglycoside nephrotoxicity, J. Infect Dis. 1989, 159, p. 945-953
25. GILBERT D-W., - Once-daily aminoglycoside therapy, Antimicrob.Agents.Chemother.1991, 31 p.4-8
26. GOULD I.M., MILNE K., JASON C., -Concentration dependent bacterial Killing adaptative resistance and postantibiotic effect of ciprofloxacin alone and in combination with gentamicin, Drug .Exp.Chim.Res.1990, 16, p. 621-628

27. GRAEWITZ VON A.-Antimicrobial therapy of infections with aerobic Gram- positive rods. CMI 2001, 7 suppl.4, p.43-46
28. HALLAND S.M., -Cytokines therapy of mycobacterial infections, Adv.Intern.Med. 2000, 45, p.431-452.
29. HAND W.L., KING-THOMASON N.L., JOHNSON D., -Influence of bacterial antibiotic interactions on subsequent antimicrobial activity of alveolar macrophages, J.Infect.Dis.1984, 149 p.271-276
30. HERRERA-INSUA I., PEREZ P., MARTINEZ P., GOMEZ-LUS M.L., PRIETO J., - Meropenem induced alteration of the susceptibility of Escherichia coli and Staphylococcus aureus to the bactericidal activity of human polymorphonuclear leucocytes, J. Antimicrob. Chemother. 1997, 39, p.223-228
31. HIDAI H.-Antibiotics-TAZ/PIPC, synercid, linezolid, everninomicin, Nippon Rinsho 2001, 59, p. 785-789.
32. HUSTIN W.N.M., HOEPELMAN I.M. – Aminoglycoside dosage regimens, Clin. Pharmacokinet. 1993, 25, p.427-432
33. IRSCHIK H., AUGUSTINIAK H., GERTER K., HOFFE G., REICHNBACH H. – The ripostatins, novel inhibitors of eubacterial RNA polymerase isolated from myxobacteria, J. Antibiot (Tokyo) 1995, 48, p.787-792
34. JACKSON G.G., LOLANS V.T., DAIKOS G.J.-The inductive role of ionic binding in the bactericidal and postexposure effects of aminoglycoside antibiotics with implications for dosing, Infect.Dis.1990, 162, p. 408-413
35. JACKSON J.J., KROPP H. – Beta lactam antibiotic-induced release of free endotoxin: *in vitro* comparison of penicillin-binding PBP-2 specific imipenem and PBP-3 specific ceftazidime J.Infect. Dis. 1992, 165, p.1033-1041
36. KISHORE B.K., TULKENS P.M. – Comparative assessment of poly-l-aspartic and poly-l-glutamic acids as protectants against aminoglycoside-induced nephrotoxicity, Arch. Toxicol. Suppl. 1989, 13, p.409-412
37. LIM J., YUN H.-Postantibiotic effects and postantibiotic sub-MIC effects of erythromycin, roxithromicin, tilcomisin and tylosin on Pasteurella multocida.Int. J. Antimicrob. Agents. 2001, 17, p.471-476.
38. LIN. M., DOUTHWAITE S., -Resistance to the macrolide antibiotic tylosin is conferred by single methylation at 23 S rRNA nucleotides G 748 and A 2058acting in synergy. Proc.Natl.Acad.Sei.USA 2002, 99 p.14658-14663
39. LORIAN V.-Medical relevance of low concentrations of antibiotics, J. Antimicrob. Chemother.1993, 31, suppl D., p.137-140
40. MACKENZIE F.M., GOULD I.M., -The post-antibiotic effect, J. Antimicrob. Chemotherapy, 1993, 32, p. 519-537
41. MADGWICK L., MAYER S., KEEN P., - Penetration of antibiotics into bovine neutrophils and their activity against intacellular Staphylococcus aureus, J. Antimicrob. Chemother., 1989, 24, p. 709-718
42. MALABARBA A., CIABATTI R., GERLI E., RIPAMONDI F., FERRARI P., COLOMBO L., OLSUFYEVA E.N., PAVLOV A.Y., REZNIKOVA M.I., LAZHKO E.I., PREOBRAZHENSKAYA M.N. – Substitution of aminoacids 1 and 3 in teicoplanin aglycon-synthesis and antibacterial activity of three first non-natural dalbaheptides, J.Antibiotics 1997, 81, p.70-81
43. MARISAKI N., HOSHIMOTO U., FURIHATA K., YAZAWA K., TAMURA M., MIKAMI Y., - Glicosilative inactivation of Chalcomyem and tylosin by a clinically isolated Nocardia astenoides Strain, J.Antibiot. C.Tokyee, 2001, 54, p.157-165
44. MATTIE H., CRAIG W.A., PECHERE J.C., - Determinants of efficacy and toxicity of aminoglycosides, J. Antimicrob.Chemotherapy 1989, 24, p. 281-293
45. MCDONALD P.J., WETHERALL B.L., PRULL H., -Postantibiotic leukocyte enhancement:nevated susceptibility of bacteria penetrated with antibiotics to activity of

leukocytes, Rev.Infect.Dvs.1981, 3 p. 38-44
46. MENIN E., PANTEIX G., REVOL A., - In the uptake of pefloxacin in human blood monocytes a simple diffusion processes., J.Antimicrob. Chemother. 1996, 38, p. 787-798.
47. MINGEOT – LECLERCQNE M.P., PIRET J., BRASSEUR R., TULKENS P.M. – Effect of acidic phospholipids on the activity of lysosomal phospho-lipases and on their inhibition by aminoglicoside antibiotics, Biochem Pharmacol. 1990, 40, p.489-497
48. MUNOZ-BELLIDO J.L., MUNOZ-CRIODO S., GARCIA RODRIGUEZ J.A., - Antimicrobial activity of psychotropic drugs, selective serotonine reuptake inhibitors Int. J. Antimicrobial Agents, 2000, 14, p.177-180
49. NECHIFOR M., -Terapia antibacteriană, antifungică şi antivirală în stomatologie, Editura Glissando, Iaşi, 2002.
50. ODENHOLT-TORUQUIST-Studies on the postantibiotic sub-MIC effect of meropenema, J.Antimicrob.Chemother.1993, 31.p.881-892
51. PASENAL A., LOPEZ G., ARAGON J., PEREA E.J.-Effect of azithromycin, roxithromycin and erithromycin in human polymorphomedar lenkoeyte function against Staphylococcus aureus, Chemotherapy 1982, 22, p. 1084-1086
52. PAVLOV A.Y., BERDNIKOVA T.F., OLSUFYEVA E.N., MIROSHNIKOVA O.V., FILIPOSYANZ S.T., PREOBRAZHENSKAYA MN.- Carboxamides and hydrazide of glycopeptide antibiotics eremomycin synthesis and antibacterial activity, J. Antibiotics 1996, 49, p.194-198
53. PERITI P., MAZZEI T., MINI E., NOVELLI A. – Clinical Pharmacokinetic properties of the macrolide antibiotics, Clin Pharmacokinetics, 1989, 16, p.193-211
54. PRINS J.M., BULLER H.R., KUIJPER E.J., TANGE A., SPEELMAN P., -Once versus thrice daily gentamicin in patients with serious infections-Lancet 1993, 341, p.335-339
55. PRINS J.M., VAN DEVENTER S.J.H., KUJPER E.J., SPEELMAN R. – Clinical relevance of antibiotic-induced endotoxin release, Antimicrob. Agents. Chemother.1994, 38, p.1211-1238
56. PRYKA R.D., HAIF G.M. – Meropenem: a new carbapenem microbial, Annals, Pharmacother 1994, 28, p.1045-1054
57. RAZ R., ADAWI M., ROMANO S., -Intravenos administration of gentamicin once-daily versus thrice-daily in adults, Eur.J. Chim.Microbise SInfect.Dis.1995, 14, p.88-91
58. RIDGWAY G.I., FELMINGHAM D., RAOULT D., RUBINSTEIN E., -Antimicrobial Susceptibility testing of intracellular and cell-associated pathogens.Eucast Disscution Document E. Dis.6.1March 2001
59. RIFENBERG R.P., PALADINO J.A., HANSON S.C., TULTLE J.A., -Schentag Benchmark analysis of strategies hospitals use tr control an antimicrobial, Am.J.Health-System Pharm.1996, 53, p.205-2062
60. RODVOLD K.A., DANZINGER L.H., QUINN J.P., -Single daily doses of aminoglycosides, Lancet 1997, 350 p.1412-1413
61. ROMANI L., PUCCETTI P., BISTONI F., -Interlenkiw-12 in infections diseases, Chim. Microb. Rev. 1997, 10, p.611-636
62. SASAKI T., IGARASHI Y., SAITO N., FURUMAI T. – Cedarmycins A and B new antimicrobial antibiotics from Streptomyces sp. (Tokyo) 2001, 54, p.567-572
63. SCHENKMAN J.B., GREIM H.- Cytochrome P450, In "Handbook of experimental pharmacology", Springer Verlag, Berlin 1993, p.105-115
64. SCHIERHOLZ J.M., RUMP A., PULVERER G. – New antiinfectious biomaterials – ciprofloxacin containing polyurethanes as potential drug delivery systems to prevent foreign-body infections, Arzneim-Forschung/Drug.Res. 1997, 47, p.70-74
65. SHARMA R., SAXENA D., DWIVENDI A.K., MISRA A. – Inhalable microparticles containing drug combinations to forget alveolar macrophages for treatment of pulmonary tuberculosis., Pharma Res. 2001, 18, p.1415-1410
66. SPRONG R.C., HULSTEIN M.F.E. der MEER R.-Bactericidal Activities of Milk lipidis., Antimicrob.Agents.Chemother.2001, 45, p.1298-1301.

67. STOLLER N.H, JOHNSON L.R., TRAPNELL S., HARROLD C.Q., GARRETT S. – The pharmacokinetic profile of a biodegradable controlled release delivery system containing doxycicline compared to systemically delivered . Doxycicline in gingival crevicular fluid, saliva and serum, J.Periodontol. 1998, 69, p.1081-1091
68. SUAREZ S., O'HARA P., KAZANTSEW M., NEWCONNER C.E., HOPFER R., MC MURRAY D.N., HICKEY A.J. – Respirable PLGA microspheres containing rifampicin for the treatment of tuberculosis: screening in an infectious disease model, Pharm. Res. 2001, 18, p. 1315-1319
69. SUGIE Y, HIRAI H, INAGAKI T, ISHIGURO M, KIM YJ, KOJIMA Y, SAKAKIBARA T, SAKEMI S, SUGIURA A, SUZUKI Y, BRENNAN L, DUIGNAN J, HUANG LH, SUTCLIFFE J, KOJIMA N. A new antibiotic CJ-17, 665 from Aspergillus ochraceus. J Antibiot (Tokyo). 2001 Nov;54(11):911-6.
70. TABURET A.M., FURLAN V. – Le systeme des cytochromes P450 – definition, role et implication dans la pharmacocinetique des anti-infectieux, Lett. Infectiol. 2000, 15, 12-17
71. TANG Y.Q., SATTER I., THIERICKE R., GRABLEY S., FENG XZ. – Feigrisolides A, B, C, and D new lactones with antibacterial activities from Streptomyces grisens, J.Antibiot. (Tokyo) 2000, 53, p. 934-943.
72. TAYLOR P., ANDERSON V., DOWDEN J., FLITSCH S.L., TUNER N.J., LOUGHRAN K., WALKIN SHAW M.D., -Noved Mechanism of Inhibation of Elastase by β-Lactams is Defined by Twe Inhibitor Cristal Complexes , J.Biol.Chim.1999, 274, p.24901-24905.
73. TRAUTMANN M., ZICK R., RUKAVINA T., CROSS A.S., MARRE R. – Antibiotic induced release of endotoxin: *in vitro* comparison of meropenem and other antibiotics, J. Antimicrob. Chemotherap. 1998, 41, p.163-169
74. WHO Treatment of tuberculosis guidelines for national programmes Second Edition 1997
75. WILLIAMS D.H., WALTHO J.P. – Molecular basis of the activity of antibiotics of the vancomycin group, Biochem. Pharmacol. 1988, 37, p.133-141
76. WILMONTH R.C, KASSAMALLY S., WISTWOOD N.J., SHEPPARD R.J. CLARIDGE T.D., APLIN R.T., WRIGHT P.A., PNTCHARD G.J., SCHOFIELD C.J., - Mechanistic insights into the inhibition of Senne proteases by monocyclic lactams, Biochemistry 1999, 38 p. 7989-7998
77. WUEST J., LANZENDORFER H., VON GRAEVEMTZ A., GLOOR H.J., SMITH B.- Peritonitis caused by Actinomadma madurae in a patient on CAPD., Eur.J.Clin. Microbiol.Infect.Dis.1990, 91, p.700-701.
78. XIONG Y.A., CAILLON J., KERGUERIS M.F., -Adaptative resistence of Pseudomonas aeruginosa and Killing Kinetics in rabbit endocarditis model, Antimicrob. Agents.Chemotherapy 1997, 41, p.823-826
79. YEW W.W. – Therapeutic drug monitoring in antituberculosis chemotherapy: clinical perspectives, Clin. Chim. 2001, 313, p.31-36
80. ZHAN L., YAN B., MA W. – Controled clinical study of efficacy of fixed-dose compounds rifater/rifinah in antituberculous chemotherapy, Zhonghna Jies. 1998, 21, p. 645-647.

II. CHIMIOTERAPICE ANTIBACTERIENE ŞI ANTIFUNGICE

CHINOLONE – PREZENT ŞI VIITOR

C. Oniscu [*], D. Caşcaval[*], Anca-Irina Galaction[**], Anca-Mihaela Mocanu [*]

[*] *Universitatea Tehnică „Gh Asachi", Iaşi, Facultatea de Chimie Industrială*

[**] *Universitatea de Medicină şi Farmacie „Gr. T. Popa", Iaşi, Facultatea de Bioinginerie Medicală*

Abstract

The synthetic routes of quinolone derivatives, theirs therapeutic applications as chemio therapeutics with systemic action as well as new researches for the obtaining of quinolone with high systemic action and antiviral action, are presented.

După descoperirea şi introducerea în terapeutică a antibioticelor de biosinteză, semisinteză şi sinteză, descoperirea chinolonelor şi apoi introducerea lor în tratamentul infecţiilor căilor urinare şi, mai târziu, în infecţii sistemice, reprezintă o altă mare realizare pentru chimioterapie.

J.R. Price descoperă în 1949, pentru prima dată, o structură de chinolonă prin degradarea alcaloizilor, care, din nefericire, este inactivă, dar a rămas cunoscută sub denumirea de „derivatul Price".

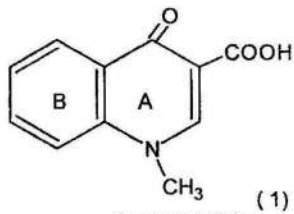
Mai târziu, în 1962, G.Y. Lesher sintetizează acidul nalidixic (NEGRAM), pe care îl introduce în 1965, în practica terapeutică ca medicament antimicrobian activ în infecţiile căilor urinare.

Acest produs reprezintă capul de serie al clasei de medicamente cunoscută astăzi sub denumirea generică de derivaţi chinolinici. Negramul se caracterizează

prin acţiune moderată asupra germenilor gram-negativi, care includ *E. Coli, Proteus microbilis, Klebsiella pneumaniae, Seratia, Salmonella* etc.

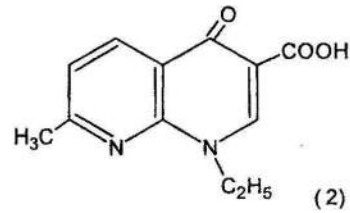
Succesele obţinute în tratarea cu Negram a infecţiilor urinare, destul de răspândite au declanşat un ritm susţinut în cercetarea chinolonelor.

Au fost sintetizate noi structuri biologic active, având la bază derivatul lui Price (1) substituit în diverse poziţii, în special în ciclul B, dar şi derivaţi care au sistem biciclic de naftiridine (2), cinoline (3), pirido-pirimidine (4), chinoline (5).



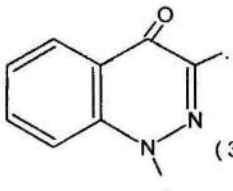
(1)

Derivatul Price

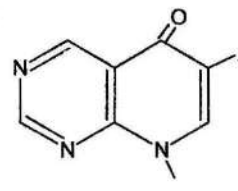


(2)

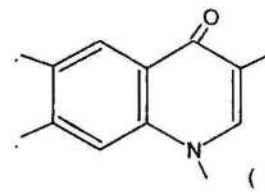
Acidul nalidixic



(3)



(4)



(5)

Studiile realizate s-au concretizat prin creşterea foarte rapidă a numărului de noi chinolone care au impus o sistematizare chimică şi farmacologică.

Clasificarea chinolonelor

Din sistematizarea structurilor chinolonice sintetizate rezultă că o clasificare a chinolonelor se poate face funcţie de spectrul antibacterian şi de prezenţa sau absenţa fluorului în scheletul aromatic, criterii oarecum arbitrare, dar care au permis o ordonare raţională a chinolonelor funcţie de structura chimică.

Prin studiile realizate s-au sintetizat noi chinolone urmărindu-se în principal:

1. ridicarea eficacităţii antibacteriene prin reducerea de 100 – 250 ori a CMI, lărgirea spectrului antibacterian cu includerea germenilor gram-pozitivi şi a unor bacterii cu dezvoltare intracelulară.
2. ameliorarea caracteristicilor farmacocinetice (biodisponibilitate, distribuţie tisulară) care au condus recent la obţinerea unor chinolone cu activitate sistemică deosebit de eficientă.

Conform acestor criterii, chinolonele utilizate în practică se clasifică în două generaţii:

a. **Chinolone din prima generație**

Sintetizate în perioada 1965- 1985 sunt caracterizate prin:

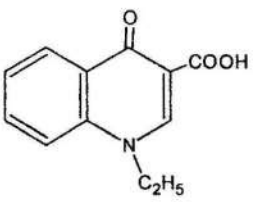
- reunirea structurilor neflorurate, cu excepția flumechinei (APURON);
- spectru antibacterian larg, dar numai pe germeni gram-negativi

introduse în terapeutică în două etape:

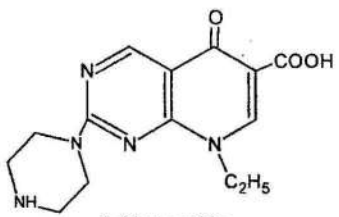
- 1965 – 1975: acid nalidixic și omologii săi, activi pe germeni gram-negativi, în afară de *Pseudomonas;*
- 1975 – 1985: acid pipemidic și analogi, activi pe germeni gram-negativi, inclusiv *Pseudomonas,* dar la CMI mai mari de 20 μg/ml.

Un caz singular îl reprezintă în această generație, Rosoxacina (ERACINA), activă asupra *Neisseria gonorrhoeae,* la CMI = 0,5 μg/ml.

Chinolonele reprezentative pentru această generație și anul introducerii în terapeutică sunt redate mai jos:

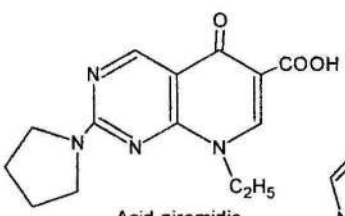


Acid oxolinic
(Urotrate 1974)

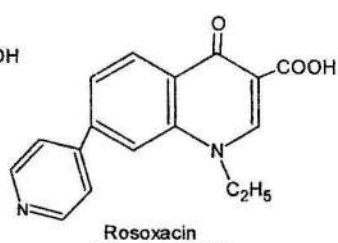


Acid pipemidic
(Pipram 1975)

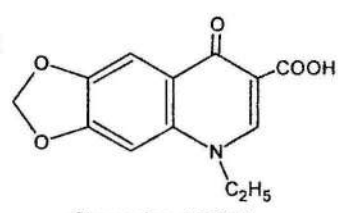
Flumechina
(Apuron 1978)



Acid piromidic
(Purim 1981)



Rosoxacin
(Eracin 1983)



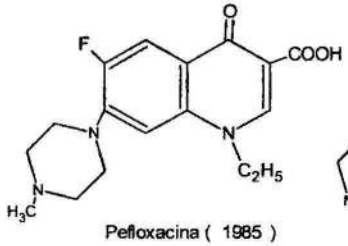
Cinoxacina (1984)

b. **Chinolone din generația a doua**

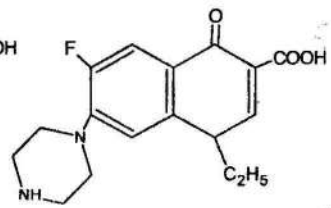
Ca rezultat al intenselor cercetări realizate în domeniul chinolonelor s-a reușit introducerea în practica terapeutică, în 1986, a unei noi structuri chinolonice, ce conține în moleculă fluor și rest piperazinil – denumită Norfloxacina, caracterizată prin creșterea semnificativă a activității biologice la valori mici ale CMI și un spectru antibacterian foarte larg ce include germeni gram-negativi dar și gram-pozitivi, precum și *Pseudomonas aeruginosa.*

O dată cu introducerea Norfloxacinei în terapeutică s-au pus bazele celei de a doua generații de chinolone, denumite generic fluorochinolone.

Structura chimică a principalelor fluorochinolone utilizate curent în practica terapeutică este redată mai jos:

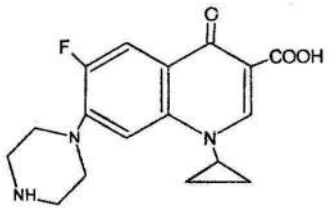


Pefloxacina (1985)

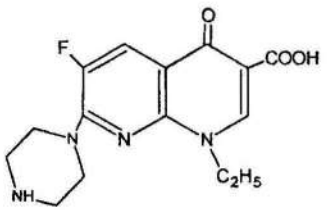


Norfloxacina (1986)

Ofloxacina (1987)



Ciprofloxacina (1988)



Enoxacina (1990)

Toate aceste fluorochinolone sunt caracterizate prin:

- activitate bactericidă instalată foarte rapid şi deosebit de intensă şi spectru antibacterian foarte larg, afectând:
  - germeni gram-negativi la CMI de ordinul 1 μg/ml, inclusiv enterobacterii devenite rezistente la acid nalidixic;
  - germeni gram-pozitivi, inclusiv cei rezistenţi la meticilină şi gentamicină;
  - germeni cu dezvoltare intracelulară şi bacili acido-alcoolo rezistenţi (*Micobacterium tuberculosis, M. leprae*).
- bună absorbţie digestivă, care permite administrarea pe cale orală, ceea ce reprezintă o noutate foarte interesantă pentru terapeutică;
- excepţionalele distribuţii şi concentraţii tisulare permit tratarea infecţiilor pulmonare, ORL, infecţii cutanate şi osoase etc. Tabelul de mai jos evidenţiază nivelul difuziei tisulare a ofloxacinei , din care rezultă că nivelul concentraţiei tisulare este superior celei serice şi chiar superior valorii CMI_{90} pentru germeni patogeni.

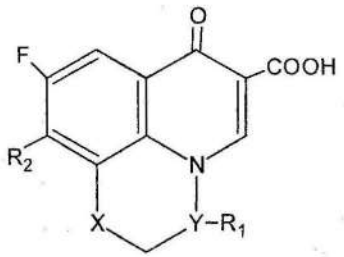
Distribuţiile tisulare superioare celor serice reprezintă specificul chinolonelor şi explică foarte mult lucruri legate de mecanismul de acţiune.

Tabel 1. Raportul R al concentrației tisulare/ serice în ofloxacină (OFLOCET).

Organul țintă	Rinichi	Plămân	Zona ORL	Piele	Prostată	Os
R	4,6	4	2,5	2,4	2	1,5

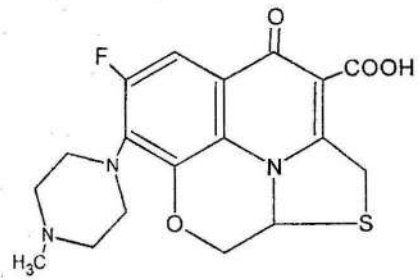
Toate aceste calități terapeutice deosebite fac din chinolonele generației a doua o „mană cerească" pentru chimioterapie care a impulsionat în continuare cercetările privind obținerea de noi structuri chinolonice.

In acest context sunt obținute chinolonele din generația a treia și a patra cu structuri tri și tetraciclice de tipul celor de mai jos:

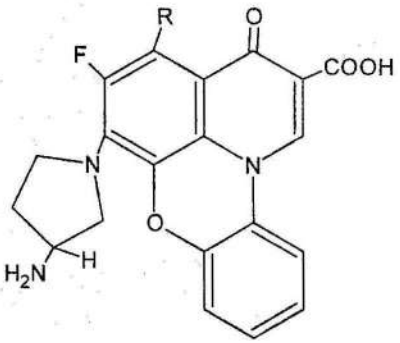


Structura triciclica

unde: X = O, CH_2, S, CO
Y= CN, N
R_1= CH_3, CH_2F
R_2 = rest de N- metil piperazina, piridina
piridil-piperazina, hidroxi-piperidina



Structura tetraciclica
(KB - 5246)



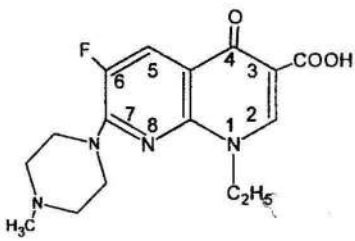
R = N - A 62176
R = NH_2 - A 85226

Aceste generații au adus în plus acțiuni sistemice mai profunde, acțiune terapeutică largă, incluzând și *Staphilococus aureus, și Chlamidia.* Pe lângă aceste efecte apar mai pronunțate acțiunile antivirale.

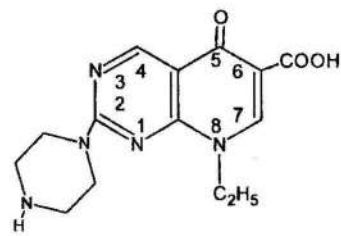
Structura chinolonelor

În structura tuturor chinolonelor se identifică nucleul comun A (acid 1-alchil-dihidro-4-oxo-3-piridincarboxilic) ortocondensat cu un ciclu B aromatic, conținând un număr de substituienți.

Numerotarea scheletului de bază începe, de obicei, cu azotul din ciclul piridinoic A, iar dacă nucleul B conține doi heteroatomi, atunci numerotarea începe din acest ciclu, așa cum rezultă din exemplul de mai jos:



Acid 1-etil-1, 4-dihidro-6-fluoro-7-($_4$-N-metil-1-piperazinil)-4-oxo-1, 8-naftiridin-3-carboxilic



Acid 8-etil-5, 8- dihidro-6-oxo-2-(1- piperazinil)- piridopirimidin-6-carboxilic

Pe lângă denumirile sistematice, se folosesc curent și denumirile care sunt specifice fiecărei generații de chinolone. Astfel, pentru chinolonele din generația întâi se folosește, în general, denumirea acid provenită din prezența funcției carboxilice din nucleul A care participă împreună cu gruparea β-carbonil la formarea de chelați cu metale și asigură un pK_{a1} caracteristic acestor derivați de 5,6 – 6,4.

La chinolonele din generația a doua (6-fluoro-7-piperazinil-chinolonele), prin prezența ciclului piperazinic sa creează caracterul amfoter, care face posibilă comercializarea sub formă de săruri și abandonarea termenului acid în favoarea unei denumiri ce include în toate cazurile sufixul „oxacina", precum ciprofloxacina, ofloxacina, norfloxacina, utilizate ca sare clorhidrat.

Studii mai intense, realizate în ultimii ani pe serii noi de compuși, au evidențiat faptul că asigurarea efectului biologic este condiționată de prezența legăturii duble $C_2 – C_3$ din 4-piridinonă, de prezența grupării carboxilice libere și de natura radicalului de la N_1.

În toți compușii chinolinici utilizați astăzi în terapeutică, ciclul A este întotdeauna asociat ciclului B aromatic, iar natura și efectele grupelor funcționale legate de acest sistem biciclic au fost optimizate prin măsurarea efectelor farmacologice produse în fiecare caz.

a) **substituții la N_1** : prin alchilare, cicloalchilare, arilare, sunt căile posibile de farmacomodulare, fără a altera fundamental proprietățile modelului. În tabelul de mai jos sunt prezentate valori ale puterii sau intensității bactericide *in vivo* a derivaților N_1 – substituiți ai acidului nalidixic asupra *Klebsiella pneumoniae.*

Tabelul 2. Efectele substituției la N_1 din acidul nalidixic asupra activității antibacteriene (*Klebsiella pneumoniae).*

Substituient	Activitate bactericidă	Substituient	Activitate bactericidă
H	-	C_6H_{13}	++
CH_3	++	$.—CH_2—CH=CH_2$	+++
C_2H_5	++++	$.—CH_2—C\equiv CH$	+
C_3H_7	++++	$.—CH_2—CH_2—OH$	++
C_4H_9	+++	$.—CH_2—CH_2—O—C_2H_5$	+

Activitatea maximă se obține pentru un substituient etil, care, în cazul flumechinei (APURON) și a ofloxacinei (OFLOCET), este angajat și în sistemul ciclic suplimentar, conferind acestor derivați pe de o parte o mare stabilitate metabolică, iar pe de altă parte un centru de chiralitate (C^*) sau, altfel spus, generare de doi enantiomeri.

În cazul ofloxacinei care există sub forma a doi enantiomeri, se remarcă faptul că izomerul levogir este, pentru unii germeni, de 8 până la 125 de ori mai activ decât izomerul dextrogir. Deoarece separarea acestor izomeri este dificilă și costisitoare, produsul comercial OFLOCET este un racemic.

Înlocuirea grupării metilenice din restul etil din poziția 1 a chinolonelor cu NH (amifloxacina) sau cu O (miloxacina) conferă noilor chinolone o biodisponibilitate mai bună.

b) **substituții la C_2** conduc, în toate cazurile, la produse inactive, excepția o face înlocuirea acestui carbon cu N, când se obține derivatul menționat mai sus, cinoxacina, activ în pielonefrite.

b) **modificarea carbonului 3** prin transformarea acestuia în eter, nitril, aldehidă, alcool, anhidrida conduce, în toate cazurile, la produse inactive, cu excepția esterilor care conduc la promedicament capabil să hidrolizeze rapid în organismul uman, eliberând produsul activ cu gruparea carboxil liberă.

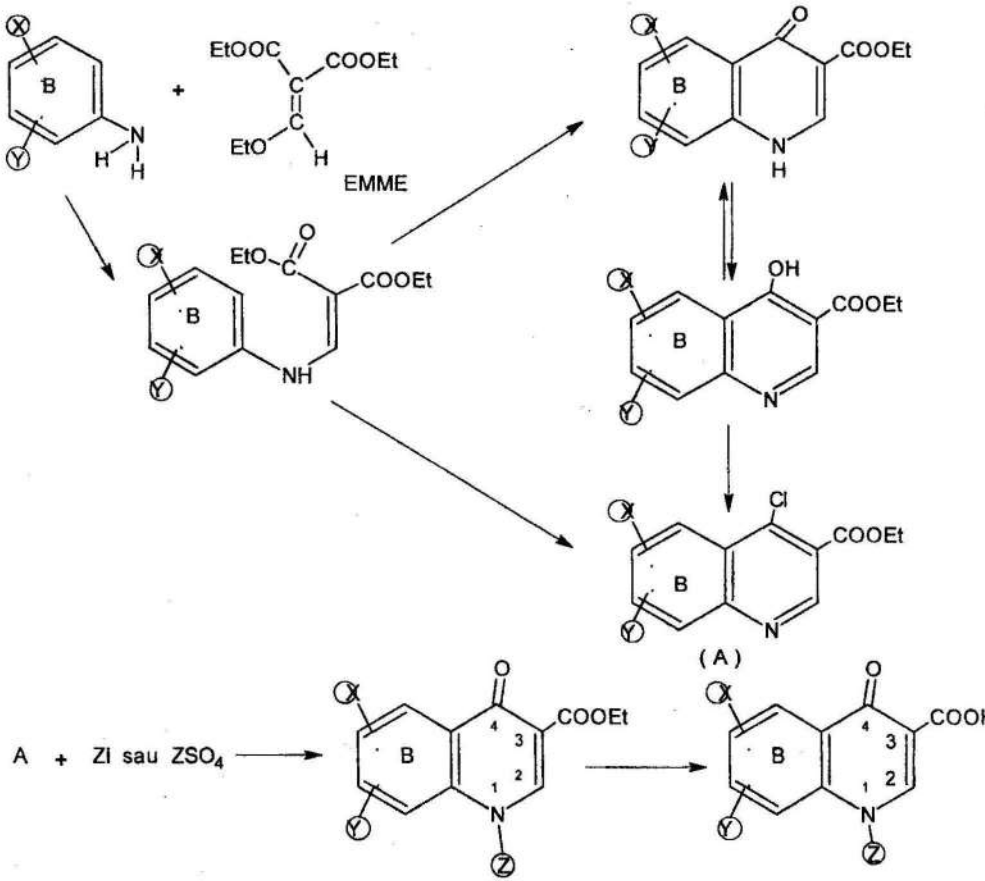
Modificările din ciclul B al chinolonelor sunt sistematizate în tabelul 3, din care rezultă că toate chinolonele introduse astăzi în practica terapeutică pot fi ordonate funcție de natura acestui ciclu aromatic, care poate fi: benzenic, pirimidinic, piridinic, conținând doi substituienți specifici generației a doua de chinolone, și anume:

- în poziția 6 se află un atom de fluor, care produce o creștere considerabilă a eficienței bacteriene;
- în poziția 7 se află un nucleu piperazinic, care mărește efectul antibacterian asupra *Pseudomonas aeruginosa.*

Metode de sinteză

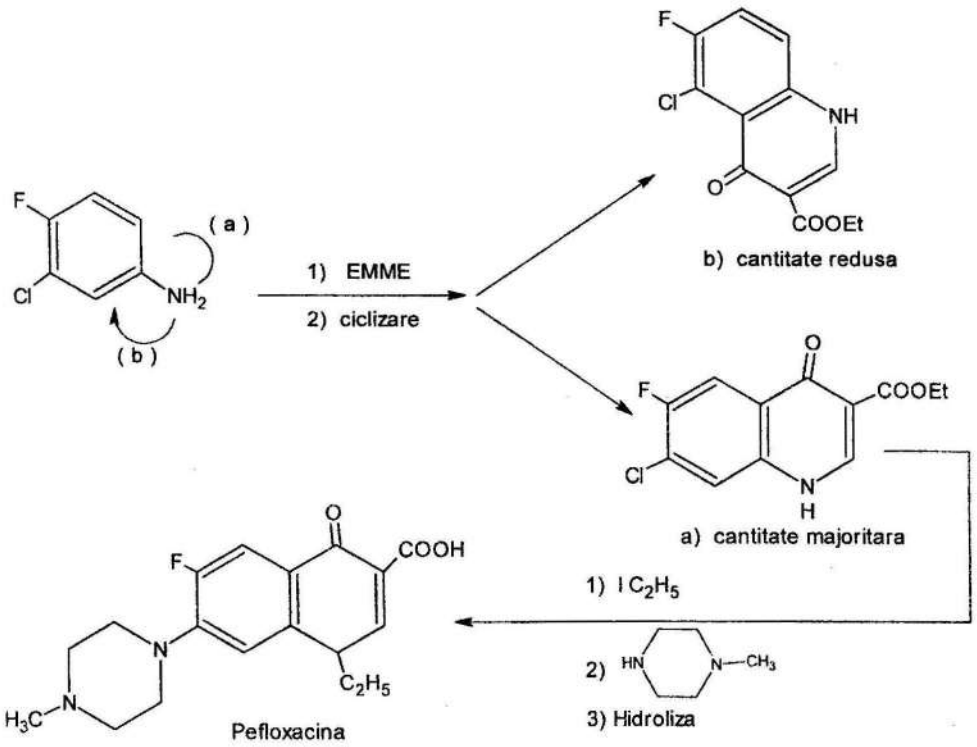
Principiul metodelor de sinteză dezvoltate în timp se bazează pe sinteza acidului nalidixic, realizată de Lesher prin condensarea arilaminelor cu etoximetilen malonat de etil (EMME), urmată de ciclizare intramoleculară la 250°C a diesterului format.

Produsul ciclizat biciclic obținut se alchilează la azot, iar în final se hidrolizează gruparea esterică, conform schemei 1.



Schema 1

Pentru obținerea chinolonelor din generația a doua au fost elaborate mai multe procedee. Într-un prim procedeu, bazat pe metoda generală concepută de Lesher, se pleacă de la arilamine, conținând fluor şi clor în nucleu, care prin condensare cu EMME, ciclizare în prezența $POCl_3$, acid polifosforic (PPA), ester polifosforic (PPE) sau săruri de zinc sau nichel şi condensare cu N-metil-piperazină conduce la pefloxacină (Schema 2).



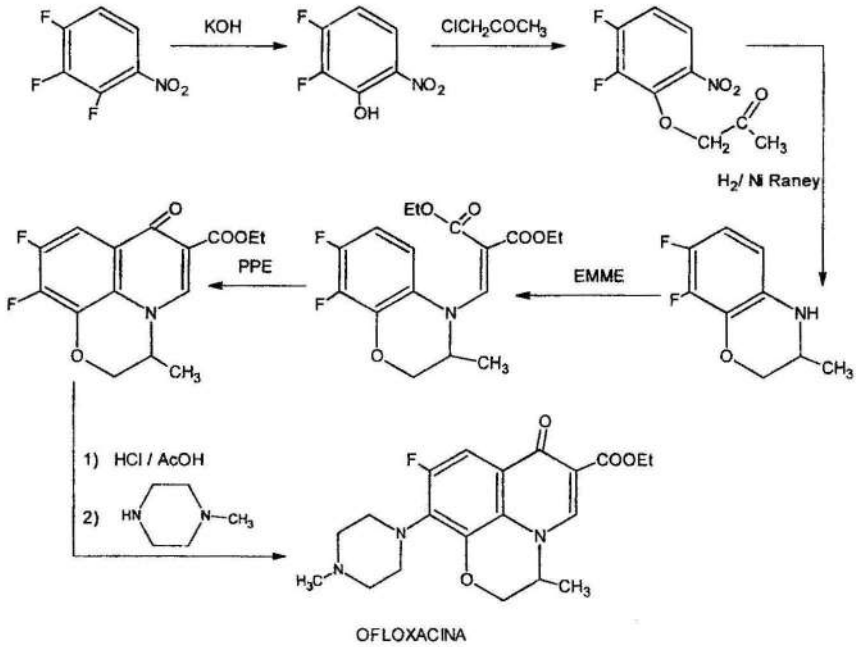
Schema 2

În această metodă la ciclizare se formează doi izomeri, dintre care unul majoritar şi util care se separă prin transformare în sare de sodiu şi recristalizare forţată

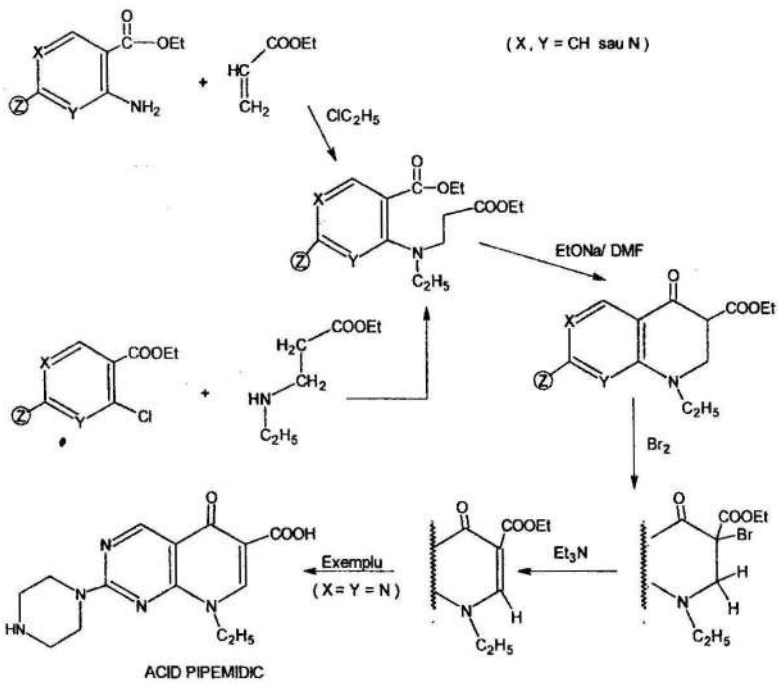
Similar se obţine şi ofloxacina, dar iniţial se construieşte ciclul morfolinic, după care se parcurg aceleaşi etape ca şi mai sus (Schema 3).

Alte procedee se bazează pe ciclizarea Diekmann (Schema 4) sau pe ciclizarea enami-esterilor obţinuţi prin reacţia derivaţilor fluoruraţi ai acizilor benzoici cu ester malonic şi, apoi, cu cloroformiat de etil şi ciclopropilamină.

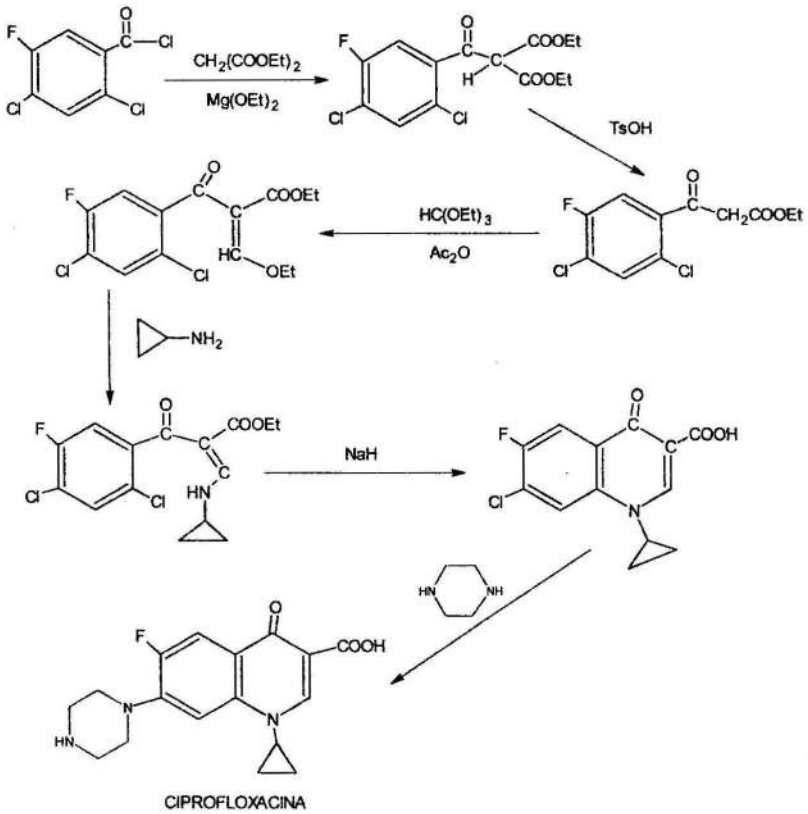
Ciclizarea se realizează în prezenţa hidrurii de sodiu, fiind urmată de introducerea ciclului de piperazină (Schema 5).



Schema 3



Schema 4



Schema 5

Dacă chinolonele din prima generație au activitate biologică mai restrânsă, cu direcționare spre infecțiile urinare acute și cronice, chinolonele din generația a doua au o sferă foarte largă de acțiune biologică, și anume:

1. în infecțiile urinare și, în particular, în prostatite, datorită penetrației excelente.
2. în infecțiile sistemice acute și cronice, incluzând infecțiile bronhopulmonare, infecțiile osteo-articulare acute, septicemii, endocardite, infecțiile generate de bolile transmisibile sexual, meningite, infecții cronice, precum bronșitele cronice, bronșectazie, osteo-artrite purulente, otite și sinuzite cronice, prostatite cronice etc.

Tabelul 2 sintetizează efectele produse de chinolone asupra tulpinilor microbiene și evidențiază calitățile terapeutice deosebite ale chinolonelor din generația a doua.

Tabelul 2

Spectru antibacterian	Chinolone din prima generație	Generația inter-mediară	Generația a doua - Fluorochinolone				
		Acid pipemidic	Enoxa-cină	Pefloxacină	Norfloxa-cină	Ciprofloxa-cină	Ofloxacină
Cocci GRAM (+)							
Staphylococcus aureus	R	+/ -	+	+ + +	+		+ +
Streptocoques	R	R	NE	+/ -	R, +/ -	+ +	+
Streptococcus pneumoniae	R		NE	+/ -	NE	+	+/ -,+
Streptococcus faecalis	R		NE	+/ -	NE	R, +/ - +	+
Cocci GRAM (-)	meningitidis	R sau f a.	R		+	+ +	+ + +
Neisseria	gonorrhoeae	oxolinic + R	R	+ + +	+ + + /+	+ + +	+ + + (>)
Bacili GRAM (-)							
	+	+	+	+ + +	+ +	+ + +	+ + +
E. Coli	+/ -	+	+	+ + +	+	+ + + + +	+
Proteus Indole +	+/ -	+	+	+ + +	+	+ + + +	+
Proteus Insole –		+/ -	+/ -,+	+ + +	+ + +	+ + + + +	+
Klebsiella,	+/ -	+/ -	+	+	+ + +	+ + +	+
enterobacteries	+/ -	+/ -	+ +	+ +	+ +	+ + +	
Enterobacter	+/ -	+/ -	+ +	+ + + + +	+ + +	+ + +	+ + +
Salmonella	+/ -	+/ -	NE	+ +	+		
Shigella	NE						
Brucila		+/ -	+/ -	+			
Pseudomonas	R	R	+	+ +	+/ -	+	+
aeruginosa	+/ -				+ + / + +	+	+ + (>)
Acincto bacter					+		
Haemophilus	R sau f	+/ -	NE	+ +		NE	+/ -,+
influenzae	a. oxolinic ++	NE	NE	+	NE		
Mycoplasma hominis	NE	NE	+ + +			+ + +	+ + + + +
Chlamidia trachomatis		NE	NE	+/ -	+/ -		
Legionella	NE					+ +	
Ureaplasma	NE	NE	NE	+	+/ -		+ + +
ureayticum	NE			+/ -,+	+/ -	+ + +	+ +
					+/ -	+ +	+
Mycobacterium tuberculosis	NE	NE	NE	R, +/ -	+/ -	+	+
Anaerobe							
*Clostridium	R	R		+	R	+/ -	+
*Bacteroides	R	R		+	R	R, +/ -	R, +/ -
Frecvența mutației				5.10^{-9} $2,7.10^{-8}$	10^{-9}	$< 10^{-9}, 10^{-11}$	$< 10^{-7}, 10^{-9}$

CMI < 0,05 μg/ ml + + +
0.05< CMI< 0.01 μg/ ml + +
0,1 < CMI < 2 μg/ ml +
CMI 2 μg/ ml <...< 4 μg/ ml +/ -
CMI > μg/ ml ...R
NE neevaluat

Direcţii de cercetare în clasa chinolonelor

Toate aceste calităţi au impus continuarea cercetărilor pentru găsirea unor noi produse mai active. Cercetările ce se desfăşoară în prezent în domeniul chinolonelor urmăresc, în mod deosebit:

- creşterea proprietăţilor penetrante (de difuzie sau de distribuţie) pentru infecţii osoase;
- creşterea biodisponibilităţii la administrarea pe cale orală;
- reducerea numărului de prize zilnice de administrare;
- lărgirea spectrului antibacterian, urmărind includerea şi a streptococilor şi stafilococilor, favorizând astfel utilizarea chinolonelor în infecţii respiratorii;
- găsirea de noi chinolone cu acţiune terapeutică pronunţată pentru tratarea afecţiunilor virale şi HIV.

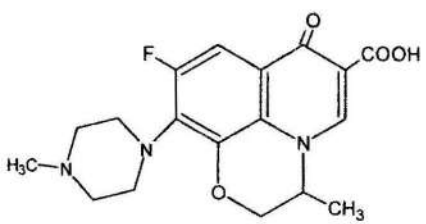
Aceste deziderate se urmăresc pe două direcţii:

1. obţinerea de noi derivaţi chinolonici prin modificarea substituenţilor din produsele cunoscute şi foarte active;
2. obţinerea de compuşi cu acţiune sinergică, prin reunirea într-o singură structură a chinolonelor cu cefalosporine.

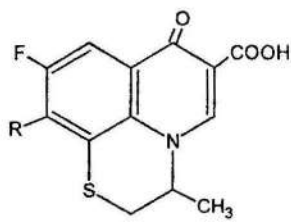
1. Obţinerea de noi derivaţi chinolonici

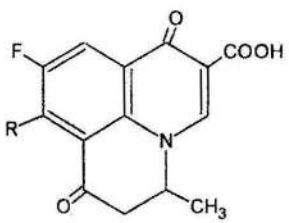
Plecând de la faptul că Ofloxacina este recunoscută ca una dintre chinolonele care îndeplineşte dezideratele menţionate mai sus, s-au întreprins cercetări susţinute prin sinteza de noi derivaţi prin modificări structurale ale ofloxacinei, prin modificarea structurii substituenţilor din sistemul biciclic al chinolonelor, prin construirea de sisteme tri şi tetraciclice.

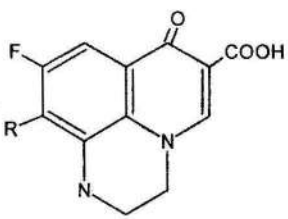
- Înlocuirea O heterociclic (din ciclul de morfolină al ofloxacinei) cu o grupare metilenică, un azot, sulf sau carbonil s-au obţinut structuri de tipul:

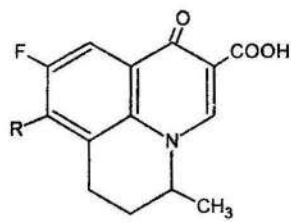


Ofloxacina

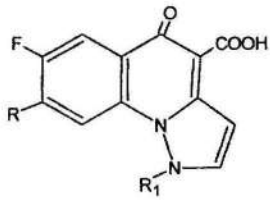
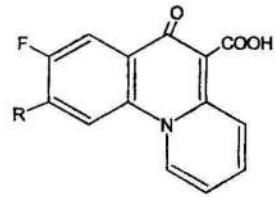
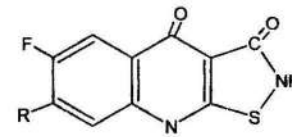




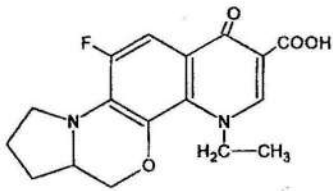
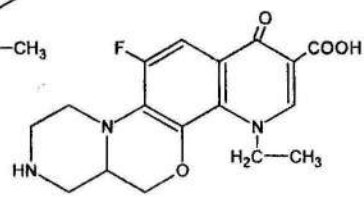
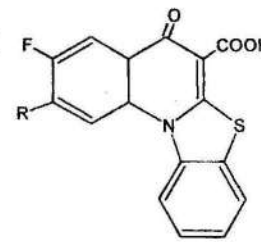




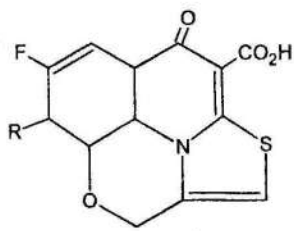
sau structuri triciclice cu al treilea ciclu în alte poziţii precum:

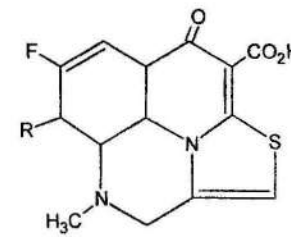
- Crearea unui al patrulea ciclu incluzând C_2 sau $C_7 - C_8$ de forma:

sau structuri de forma A şi B :

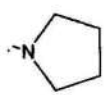
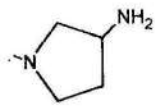
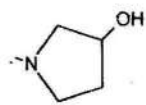
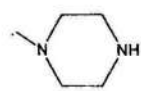
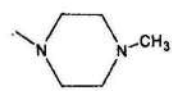
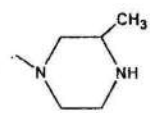
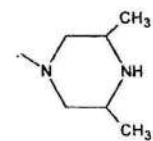
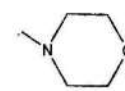
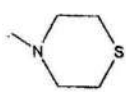


A



B

unde R este :

1. 
2. 
3. 
4. 
5. 
6. 
7. 
8. 
9. 

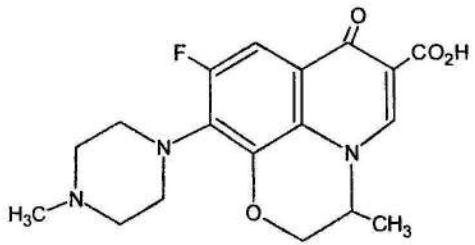
Pentru aceste structuri tetraciclice s-au realizat teste *in vitro* redate în tabelul 3, din care rezultă că toţi derivaţii prezintă acţiune biologică comparabilă cu produsele chinolonice consacrate, iar pentru unele tulpini activitatea noilor derivaţi cu structură tetraciclică este chiar superioară.

Tabelul 3. Activitatea antibacteriană *in vitro* a chinolonelor tetraciclice

Nr crt.	Compus	Valori CMI (μg/ml)		
		Staphilococcus aureus	Escherichia coli	Pseudomonas aeruginosa
1.	Norfloxacină	0,39	0,20	1,56
2.	Ciprofloxacină	0,20	0,05	0,78
3.	Ofloxacină	0,39	0,19	1,56
4.	A_1 / B_1	0,025 / 0,0125	0,20 / 0,20	1,56 / 0,39
5.	A_2 / B_2	0,200 / 0,025	0,20 / 0,05	0,78 / 0,39
6.	A_3 / B_3	0,025 / 0,0125	0,05 / 0,10	0,39 / 0,78
7.	A_4 / B_4	0,390 / 0,050	0,10 / 0,05	0,78 / 0,39
8.	A_5 / B_5	0,100 / 0,050	0,10 / 0,05	0,78 / 0,78
9.	A_6 / B_6	0,200 / 0,050	0,20 / 0,05	0,78 / 0,39
10.	A_7 / B_7	0,200 / 0,050	0,20 / 0,10	3,13 / 1,56
11.	A_8 / B_8	0,050 / 0,006	0,39 / 0,10	0,39 / 0,39
12.	A_9 / B_9	0,050 / 0,025	0,39 / 0,10	3,13 / 078

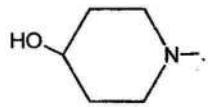
- Înlocuirea N-metilpiperazinei din poziţia 7, a derivaţilor chinolonici de tip ofloxacină sau cipro-floxacină, cu 4-hidroxi piperidina, N-(4-aminobenzil)-piperazina, cu alte heterocicluri azotate, precum piridine, piroli, azotidine, imidazol, cu rest de ciclopropil, heterocicli biciclici, conţinând piperazina, cu nucleu de pirolidină mono-, di- şi trisubstituite prin heterocicli de tip diazabiciclo [2,2,1] heptan şi diazabiciclo [3,2,2] nonan, au condus în toate cazurile la produse active a căror structură se reprezintă mai jos:

a) derivaţi de ofloxacină

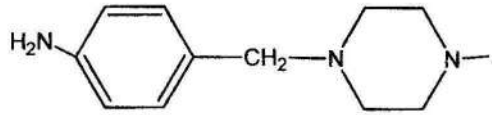


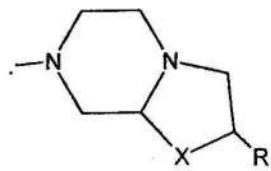
în care N-metilpiperazina din poziţia 7 este înlocuită cu:

- hidroxi-4-piperidină



- piperazine substituite

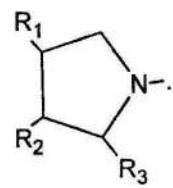




X = CH_2, S

R = H, OH

- pirolidine mono, di şi trisubstituite



unde R_1 poate fi H, NH_2, CH_2NH_2, $CH_2NHC_2H_5$;

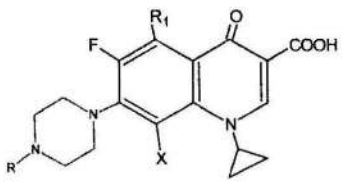
R_2 poate fi H, NH_2, Cl;

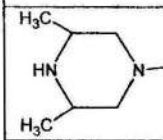
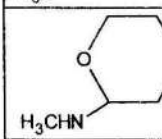
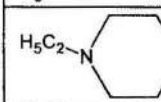
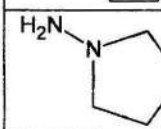
R_3 poate fi H, CH_2OH;

ex: $R_1 = NH_2$, $R_2 = R_3 = H$

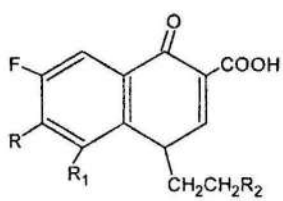
b) derivați de ciprofloxacină și pefloxacină la care s-au introdus substituienți de tipul:

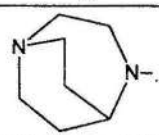
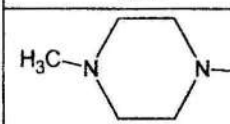
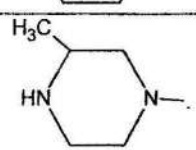
- derivați de ciprofloxacină



R	R_1	X	
	NH_2	F	AT 4140
	H	F	Y 25024
	H	H	enofloxacină
	H	Cl	AM 1091

- derivați de pefloxacină

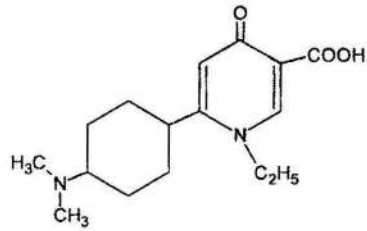


R	R_1	R_2	
	H	H	Binfloxacina
	F	H	lomefloxacina
	F	F	feroxacina

Lărgind domeniul de cercetare, s-au făcut modificări în sistemul biciclic prin înlocuirea substituientului etil de la N_1 cu un rest de ciclopropil, 4- fluorfenil, 2,4-difluorfenil, 2-fluoretil, metilamina. Aceste modificări s-au realizat pe structura de bază a difloxacinei, ciprofloxacinei, pefloxacinei.

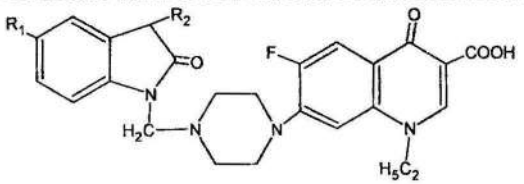
Foarte interesante sunt rezultatele obţinute cu derivaţi monociclici, conţinând în structura de bază acid 4-piridon-3-carboxilic substituit în poziţia 1 cu etil şi în poziţia 6 cu rest arilic sau amino arilic.

Dintre aceşti derivaţi s-a remarcat produsul RO-13-5478 care are o activitate apropiată de acidul nalidixic, încurajând astfel cercetările şi în acest domeniu.



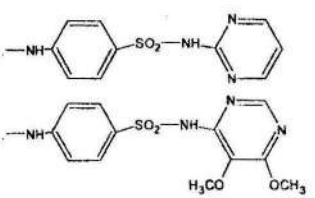
RO - 13 - 5478

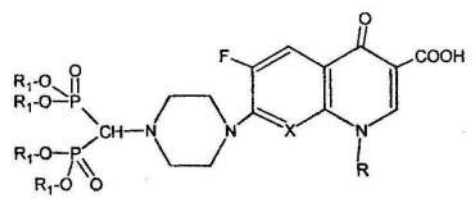
Interes sporit au căpătat în ultimii ani o serie de derivaţi de chinolonă obţinuţi prin reacţia Manich, în special cei proveniţi din norfloxacină, dar şi derivaţii ce conţin grupări bis-fosforice grefate pe nucleul piperazinic, derivaţi ale căror structuri chimice se înscriu în următoarele reprezentări generale:



unde: R_1 = H, Cl, Br;

R_2 =



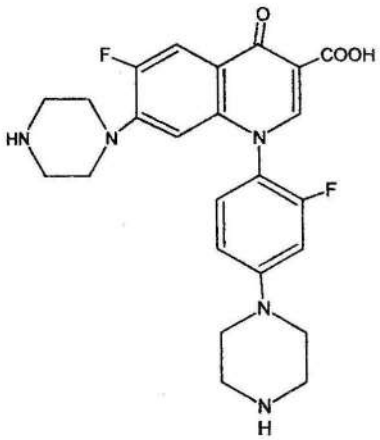


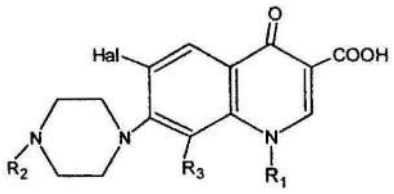
unde: R = C_2H_5,

R_1 = H, C_2H_5

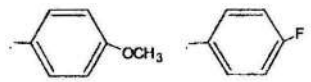
X = C, N;

De asemenea, atenție deosebită se acordă sintezei unor derivați chinolonici cu acțiune antivirală, derivați care se înscriu în următoarele structuri generale:



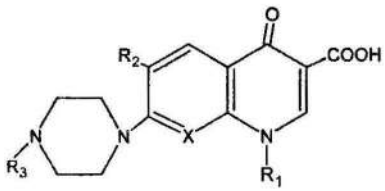


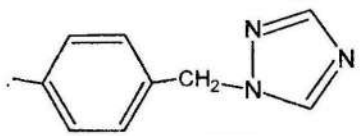
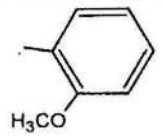
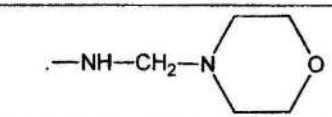
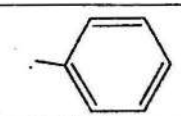
unde: $R_1 = CH_3$, t- butil, ciclopropil;

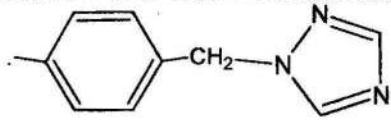
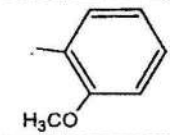
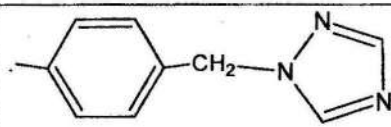
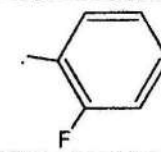
$R_2 =$ 

sau derivați cu o acțiune de inhibare a infecțiilor HIV a căror structură și teste *in vitro* sunt redate mai jos:

Tabel 4. Activitate de inhibare HIV *in vitro*



X	R_1	R_2	R_3	CI_{50} µM
$COCHF_3$		F		0,004
CCl		F		0,015

N		H		0,03
CH				0,08

Datele din tabel obținute cu limfocite umane infectate cu HIV evidențiază că această clasă de compuși chimici merită, în continuare, mare atenție atât sub aspectul sintezei cât și cel al experimentărilor farmacologice.

2. Derivați cu „acțiune dublă sinergică"

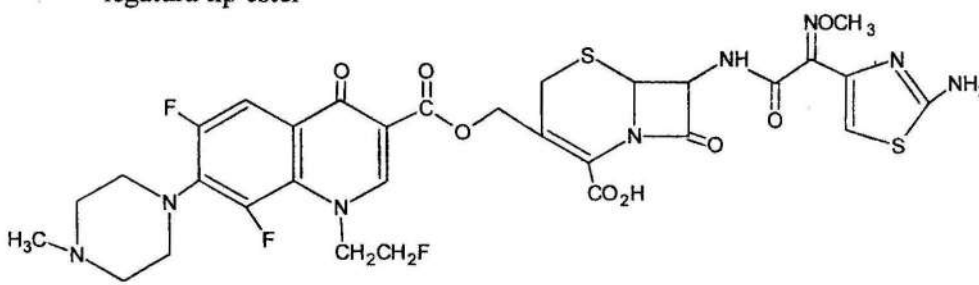
Această nouă serie de compuși biologic activi chimioterapeutici s-a obținut prin reunirea într-o singură structură a cefalosporinelor cu noi derivați de chinolone.

La formarea legăturii dintre cefalosporine și chinolone, cefalosporinele participă întotdeauna cu radicalul din poziția 3, iar chinolonele participă fie prin gruparea carboxilică din poziția 3, fie prin azotul piperazinic din poziția 7.

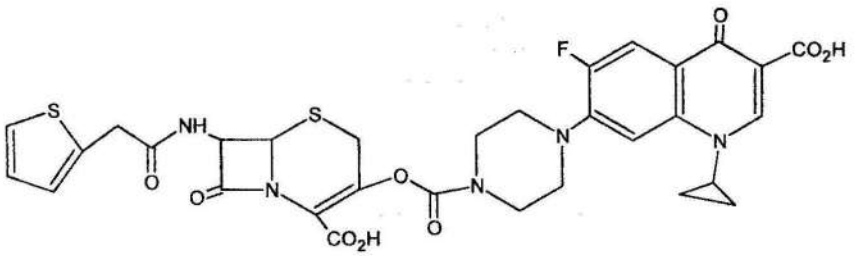
Când la legarea celor două componente participă gruparea carboxilică din chinolone, se obțin fie produse cu legătură de tip ester, fie cu legătură de tip carbonat.

În cazul în care legătura dintre cefalosporine și chinolone se face prin intermediul azotului piperazinic, atunci apare fie legarea prin intermediul unui atom de azot cuaternar, fie prin intermediul unui azot terțiar.

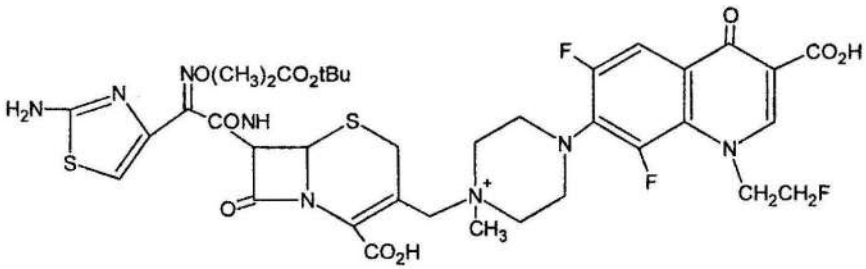
~ legătură tip ester



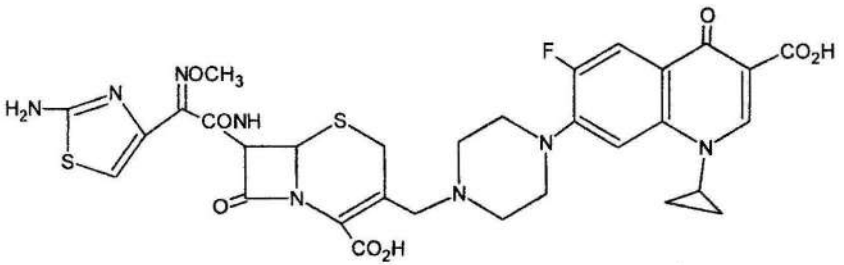
~ legătură tip carbamat



~ legătură prin intermediul unui atom de azot cuaternar



~ legătură prin intermediul unei amine terţiare



Dintre aceşti compuşi, cei mai activi sunt derivaţii tip ester, care pot fi socotiţi promedicamente care, hidrolizând enzimatic foarte uşor, eliberează componentele biologic active, care îşi manifestă imediat acţiunea antibacteriană.

Toate cercetările urmăresc, deci, obţinerea unor molecule ideale, care să posede o hidrosolubilitate foarte ridicată, spectru antibacterian foarte larg, un efect înalt asupra anaerobelor şi streptococilor, efecte secundare minime şi, în particular, netoxice pentru SNC.

Atingerea acestor cerinţe poate fi realizată mai uşor dacă se va extinde utilizarea calculatoarelor în studiul relaţiei structură-acţiune-efecte, fapt ce favorizează reducerea timpilor de studiu, reducerea cheltuielilor şi lansarea celor mai eficiente variante structurale.

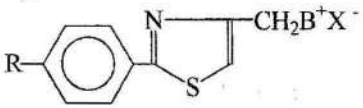
Bibliografie selectivă

1. CHU D.T. FERNANDES P.B. Advances in drug, vol. 21, 1991.
2. Colecţia J.Med. Chem. Vol 30-44 din anii 1987- 2001.
3. PACIDALLA J. VACHON S, Les nouvelles quinolones, Ed. medical. Paris, 1995.
4. RUSU G, DĂNILĂ Gh. Medicamente chinolonice, Ed. „ Gh. Asachi" Iaşi, 2001.
5. SCHLOSSER – LAFFORAGNE F, s.a., Les nouvelles 4 – chinolines, vol. 8, poster 1 şi 2, CHIMH, 1987.
6. SCOT L. D. Antibacterial Chemioterapeutic Agents, London, 1997.
7. x x x Traite de chimie therapeutique, vol 2, Ed. medical. Internt. Paris, 1992.

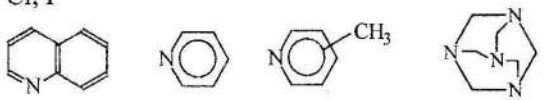
COMPUŞI CUATERNARI DE AMONIU TIAZOLICI ACTIVI PE FUSARIUM OXYSPORUM

Mariana Palage, M. Pârvu*, Ana Mureşan,
Smaranda Oniga
Facultatea de Farmacie, Universitatea de Medicină şi Farmacie „Iuliu Haţieganu"
Facultatea de Biologie, Universitatea „Babeş-Bolyai", Cluj-Napoca

Abstract
The quaternary ammonium compounds with thiazolic nucleus that we have synthesized presented *in vitro* bactericidal properties on *Staphylococcus aureus* and Escherichia coli stems and antifungic ones on *Candida albicans*.
Their general structure is:



R: H, CH_3, Cl, CF_3
X: Cl, I
B:



Further on, we have also studied the effects of these compounds on the Fusarium Oxysporum vegetal fungus which determines vascular wilt of the plants.
We have used the following concentrations for each tested substance: 0.2%, 0.1%, 0.05%, 0.03% and 0.01%.
We observed the germination, the growth and the sporulation of the fungi on the medium of culture after 3, 6, 9, 12 days. The results were compared with the control medium.
The fungicidal or fungistatic action is in relation with the nature of the substituents on the thiazol ring, and respectively, with the concentrations that we used.

Introducere

În lucrări anterioare (Palage M. şi colab. 1997) au fost prezentate posibilităţile de obţinere a unor săruri cuaternare de amoniu şi rezultatele efectului antibacterian şi antimicotic. Screening-ul s-a realizat pe tulpini de germeni gram

pozitivi, gram negativi şi pe *Candida albicans*. Compuşii testaţi au fost activi pe germenii gram pozitivi, pe *Candida albicans*, iar dintre cei gram negativi pe Escherichia coli.

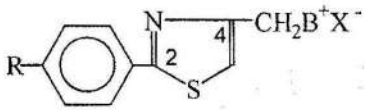
În continuarea cercetărilor am urmărit efectul unora dintre compuşii obţinuţi pe specia de ciupercă fitopatogenă Fusarium oxysporum care a fost izolată de pe planta *Opuntia spp.* (*Cactaceae*). Aceasta determină putregaiul uscat sau ofilirea vaculară a plantelor. Izolarea ciupercii s-a realizat prin secţionarea tulpinii plantelor bolnave. Câteva fragmente de tulpină, obţinute prin secţionare, au fost prelucrate conform datelor din literatură (Constantinescu O. şi colab. 1974, Pârvu M. 2000), au fost puse în camera umedă la 22^{0}C. De pe suprafaţa fragmentelor au fost obţinute miceliul şi sporulaţia de culoare albă, caracteristică ciupercii *Fusarium oxysporum*.

Prin izolare pe mediul de cultură s-a obţinut inoculul fungic care a fost preparat în diluţie de 1/10000 şi a fost folosit pentru însămânţare.

Sporulaţia ciupercii Fusarium oxysporum este alcătuită din macroconidii şi microconidii. Macroconidiile sunt fusiforme, curbate, pluricelulare, iar microconidiile sunt unicelulare şi ovale (Constantinescu şi colab. 1974, Săvulescu 1969).

Ciuperca *Fusarium oxysporum* atacă numeroase plante cultivate (cactuşii, daliile, cartofii, garoafele, etc.) la care determină ofilirea vasculară (Săvulescu, 1969).

Tabel 1. Structurile compuşilor testaţi



Nr. crit.	Compus	R	B	X
1.	Iodura de 2(p-cloro-fenil)-tiazol-4-il-metil-piridiniu	Cl	Piridina	I
2.	Clorura de 2(p-trifluorometil-fenil)-tiazol-4-il-metil-piridiniu	CF_3	Piridina	Cl
3.	Iodura de 2(p-tolil)-tiazol-4-il-metil-piridiniu	CH_3	Piridina	I
4.	Clorura de 2(p-tolil)-tiazol-4-il-metil-β-picoliniu	CH_3	β-Picolina	Cl
5.	Clorura de 2(p-tolil)-tiazol-4-il-metil-γ-picoliniu	CH_3	γ-Picolina	Cl
6.	Iodura de 2(p-tolil)-tiazol-4-il-metil-γ-picoliniu	CH_3	γ-Picolina	I
7.	Iodura de 2(p-tolil)-tiazol-4-il-metil-chinoliniu	CH_3	Chinolina	I
8.	Clorura de 2(p-tolil)-tiazol-4-il-metil-urotropiniu	CH_3	Urotropina	Cl

Material şi metodă

De pe plantele gazdă a fost izolată ciuperca *Fusarium oxysporum* care a fost cultivată pe mediul de cultură Czapek-agar, pregătit conform datelor din literatură (Constantinescu O. şi colab.1974, Pârvu 2000).

În experimentele realizate s-a studiat efectul unor compuşi cuaternari de amoniu tiazolici, prezentaţi în tabelul 1, asupra germinării şi creşterii *in vitro* a ciupercii *Fusarium oxysporum*.

Compuşii au fost introduşi în mediul de cultură şi s-au obţinut diferite concentraţii. Fiecare concentraţie din substanţa studiată a reprezentat câte o variantă experimentală pentru care s-au făcut câte 6 citiri. Sărurile cuaternare de amoniu, care sunt solubile în apă, au fost introduse în mediul de cultură după autoclavare.

În mediul de cultură, distribuit în vase Petri cu diametrul de 70 mm, s-au însămânţat coloniile fungice la 22^0C conform datelor din literatură (Constantinescu O. 1974). Citirea rezultatelor s-a efectuat la intervale succesive de timp (3, 6, 9 şi 12 zile).

Concentraţiile compuşilor cercetaţi au fost cuprinse între 0.01% şi 0.25%.

Efectul sărurilor cuaternare de amoniu asupra germinării şi creşterii *in vitro* a ciupercii a fost comparat cu martorul fără produs.

Rezultate şi discuţii

Rezultatele obţinute exprimă diametrul zonei de inhibiţie (în mm) produs de compuşi luaţi în studiu, asupra coloniilor fungice. Figura 1 prezintă imagini comparative ale efectului compuşilor testaţi faţă de martor.

În tabelul 2 sunt prezentate valorile mediilor aritmetice ale diametrelor de inhibiţie în funcţie de concentraţie, după 3, 6, 9 şi 12 zile.

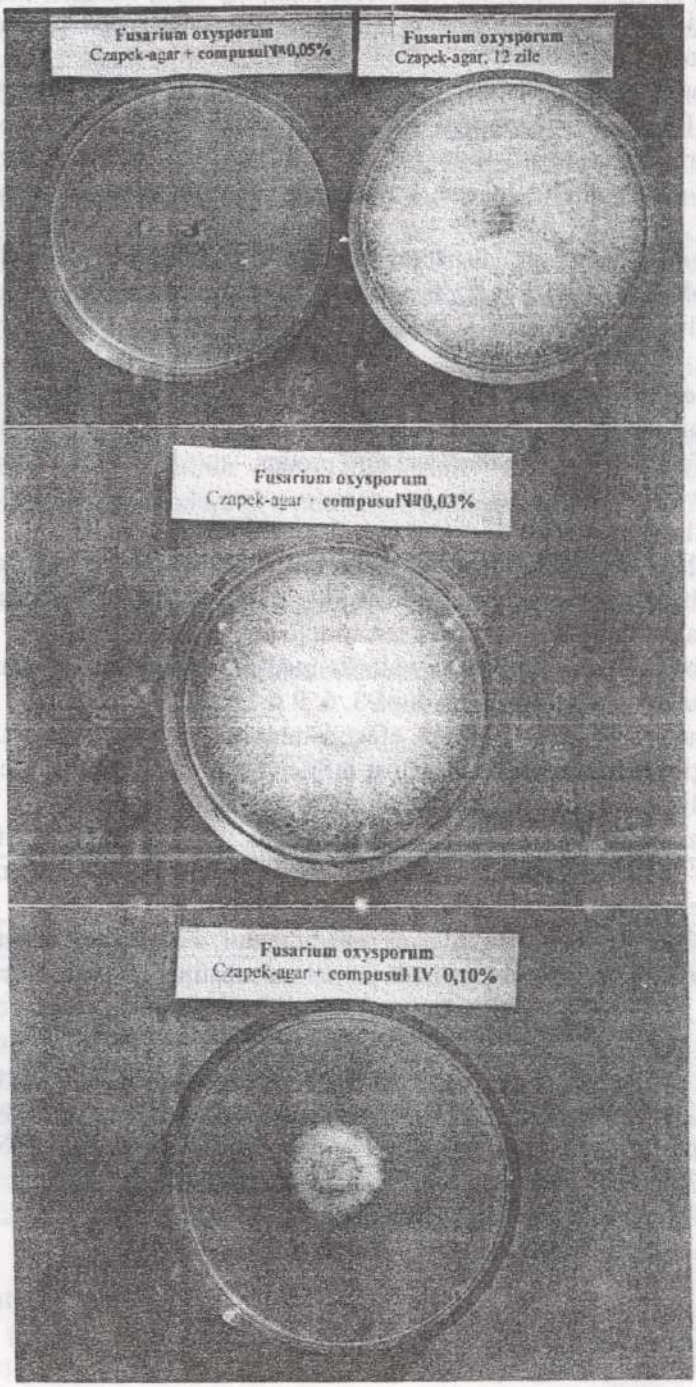
În toate cazurile se observă efectul inhibitor al compuşilor cuaternari de amoniu testaţi. Puterea inhibitoare a fost influenţată de natura substituenţilor de pe nucleul tiazolic şi de concentraţia în substanţa cercetată.

Cel mai eficient s-a dovedit a fi compusul **2**: clorura de 2(p-trifluorometil-fenil)-tiazol-4-il-metil-piridiniu care la concentraţia de 0.1% a inhibat total creşterea cipercii.

Se observă, în cazul în care substituentul din poziţia 4 este menţinut constant, că activitatea este dependentă de natura substituentului de pe nucleul fenil din poziţia 2 a tiazolului. Astfel, în cazul sărurilor de piridiniu, mai eficient au fost compusul **1** care are nucleul fenil substituit cu un rest atrăgător de electroni (Cl), comparativ cu compusul **3** în care apare o grupare respingătoare de electroni (CH_3).

În cazul substanţelor în care substituentul din poziţia 2 s-a menţinut constant (p-tolil) efectul a fost influenţat de natura bazei din poziţia 4. S-a constatat că sărurile de chinoliniu sunt cele mai active, urmate de gama-picoliniu, urotropiniu, beta-picolinium şi piridinium.

Totodată clorurile au fost mai eficiente decât iodurile.


Fusarium oxysporum
Czapek-agar + compusul IV 0,05%
Fusarium oxysporum
Czapek-agar, 12 zile
Fusarium oxysporum
Czapek-agar + compusul IV 0,03%
Fusarium oxysporum
Czapek-agar + compusul IV 0,10%

Tabel 2. Efectul *in vitro* al unor compuşi cuaternari de amoniu asupra germinării şi creşterii ciupercii *Fusarium oxysporum*

Nr. comp.	Conc. %	Diametrul în mm al coloniei, sporulația și scleroții după:			
		3 zile	6 zile	9 zile	12 zile
1.	0.03	25	43	51	61
	0.01	10	20	31	41
	0.20	0	0	0	0
2.	0.01	23	43	56	65
	0.03	11	21	22	34
	0.05	0	4	8	14
	0.10	0	0	0	0
3.	0.03	11	47	56	61
	0.05	7	39	49	55
	0.10	7	29	40	50
	0.20	0	9	15	21
	0.25	0	0	0	0
4.	0.01	24, alb, vătos, radiar	41, alb, vătos, radiar	55, alb, vătos, radiar	65, alb, plat, Sp. +
	0.03	20, alb, vătos, radiar	30, alb, vătos, radiar	48, alb, vătos, radiar	58, alb, plat, Sp. +
	0.10	10	17	21	25
5.	0.03	12	40	57	61
	0.05	6	31	50	55
	0.10	0	11	23	30
6.	0.01	19	49	58	64
	0.03	14	40	50	60
	0.10	0	20	30	39
	0.20	0	0	0	0
7.	0.01	21, alb, vătos, radiar	41, alb, vătos, radiar	57, alb, vătos, radiar	63, alb, vătos, radiar
	0.03	14, alb, vătos, radiar	31, alb, vătos, radiar	43, alb, vătos, radiar	52, alb, vătos, radiar
	0.05	0	8	15	22
8.	0.01	13	33	43	52
	0.03	9	19	23	28
	0.10	6	10	20	24
Martor		29, alb, vătos, radiar	53, alb, vătos, radiar	70, Sp. +	70, Sp. +++

Sp.+ Sporulație slabă; Sp.+++ Sporulație intensă

Concluzii

Compuşii cuaternari de amoniu testaţi au inhibat *in vitro* dezvoltarea ciupercii fitopatogenetice *Fusarium oxysporum*.

Intensitatea efectului a fost influenţată de natura substituenţilor de pe nucleul tiazolic şi concentraţia utilizată.

Cei mai eficienţi compuşi sunt cei care pe nucleul fenil, situat în poziţia 2 a tiazolului, prezintă substituenţi cu efect inductiv negativ (-I) clor (Cl) sau trifluorometil (CF_3).

Sărurile de chinoliniu sunt mai eficiente decât cele de picoliniu, urotropiniu, respectiv piridiniu.

Importantă este şi natura anionului din sarea cuaternară, clorurile fiind mai active decât iodurile.

Bibliografie

1. CONSTANTINESCU O., Metode şi tehnici în micologie, Editura Ceres, Bucureşti, 1974.
2. PALAGE MARIANA, MATINCA DOINA, HORN M., SIMITI I.: Heterocyclen, 74.Mitt: Quaternare Ammoniumverbindungen und Nitrone des Thiazoles mit Antimikrobieller Wirkung. Studia, Univ. Babeş-Bolyai, Chemia, 1997, XLII, 1-2, 51-59.
3. PALAGE MARIANA, OPREAN R., HORN M., SIMITI I., Heterocycles, 75: Thiazolic Quaternary Ammonium Salts and Thiazolic Nitrones. Chemical Structure-Antimicrobial Activity (SAR). Studia, Univ. Babeş-Bolyai, Chemia, 1997, XLII, 1-2, 61-66.
4. PÂRVU MARCEL, Ghid practic de fitologie, Editura Presa Universitară Clujeană, Cluj-Napoca, 2000.
5. SĂVULESCU OLGA, Bolile plantelor ornamentale din România, Editura Academiei Române, Bucureşti, 1969.

RIFAOT, RIFATROL ŞI RIFAGIN- NOI FORME FARMACEUTICE DE UZ VETERINAR CU PROPRIETĂŢI ANTIBACTERIENE ŞI ANTIFUNGIC

Amelia Neacşu, Rodica Viorica Roman, I. Miu,
I. Burtan*, L. Runceanu*, Virginia Asandului,
M. Fîntînariu
Centrul de cercetări pentru Antibiotice S.A., Iaşi
**Universitatea de Ştiinţe Agronomice şi Medicină Veterinară, Iaşi*

Abstract
The necessity of the elaboration of new pharmaceutical forms, which should correspond to the specific diseases of both companion animals and of those from the farms with intensive breeding, the diversification of drug production for veterinary use and the appearance of germs resisting to classical antibiotics are present-day requirements which have concerned our researchers.
In this paper we present three products for veterinary use **RIFAOT, RIFATROL** and **RIFAGIN,** powders for external use, having as basic active substances an antibiotic with a wide action spectrum and an antifungal chemotherapic, these two being associated with specific excipients to the purpose of the products.
The association of the antibacterial and of the antifungal antibiotics is a novelty in the chemotherapy. This association confers remarkable properties on these products in the treatment of severe infections of mucous membranes, infections which are caused by gram-positive, gram-negative organisms and by fungi.
As a result of the studies which were performed in the laboratory and also of the pilot tests, there have been formulated and prepared three antibacterial and antifungal powders for veterinary use: **RIFAOT, RIFATROL** and **RIFAGIN.**
The achievement of these pharmaceutical forms which are mainly meant to the treatment of otites, skin diseases and accessible mucous membranes will solve some of the difficulties of the present-day veterinary therapy with regard to the bacterial resistance, the local absortion of active substances and the mode of administration.

Introducere

Necesitatea elaborării unor forme farmaceutice noi, care să răspundă cu eficienţă afecţiunilor specifice atât animalelor de companie, cât şi celor din fermele de creştere intensivă, diversificarea producţiei medicamentului de uz zooveterinar

şi apariţia germenilor rezistenţi la antibioticele clasice sunt cerinţe actuale care au stat în atenţia cercetătorilor noştri.

În lucrare sunt prezentate trei produse de uz veterinar, RIFAOT, RIFATROL şi RIFAGIN, sub formă de pulberi de uz extern, având ca principiu de bază un antibiotic cu spectru larg de acţiune şi un chimioterapic antifungic, asociate cu excipienţi specifici destinaţiei preparatelor.

Asocierea antibioticelor antibacteriene cu cele antifungice reprezintă o noutate, conferind preparatelor proprietăţi remarcabile în tratamentul infecţiilor severe ale mucoaselor accesibile, cauzate de germeni Gram-pozitivi, Gram-negativi şi fungi.

Realizarea acestor forme farmaceutice destinate în principal tratării otitelor, afecţiunilor pielii şi mucoaselor va rezolva unele dificultăţi ale terapiei veterinare actuale legate de creşterea rezistenţei bacteriene, absorbţia locală a principiilor active şi uşurinţa în administrare.

Material şi metodă

Pentru realizarea acestor forme farmaceutice destinate în principal tratării otitelor, afecţiunilor pielii şi mucoaselor accesibile au fost parcurse următoarele etape:

- proiectarea şi realizarea tehnologiei de laborator;
- experimentarea tehnologiei la nivel pilot;
- certificare;
- proiectare pentru introducerea în fabricaţie.

În cadrul etapei de proiectare şi realizare a tehnologiei de laborator s-au avut în vedere următoarele aspecte:

- selectarea principiilor active şi a ingredientelor;
- stabilirea concentraţiei principiilor active şi a ingredientelor;
- determinarea compatibilităţii componenţilor şi stabilirea condiţiilor de lucru;
- elaborarea metodelor de analiză şi control;
- studii de stabilitate a pulberilor;
- studii farmacologice;
- studiul de piaţă şi elaborarea planului de afaceri.

Alegerea şi asocierea componentelor, pentru a obţine o bază de pulberi corespunzătoare depinde de scopul terapeutic urmărit şi de locul de aplicare.

Pe baza considerentelor privind selectarea principiilor active şi a ingredientelor precum şi a destinaţiei pulberilor propuse (tratarea otitelor, afecţiunilor pielii şi mucoaselor accesibile) s-au selectat rifampicina din clasa antibioticelor cu spectru larg de acţiune şi nistatina din clasa antibioticelor antifungice.

Alegerea substanţelor auxiliare folosite la prepararea formelor farmaceutice depinde de caracteristicile principiilor active şi de destinaţia preparatelor. Fiecare formulare trebuie studiată şi tratată individual pentru a stabili

calitativ şi cantitativ rolul pe care îl au substanţele auxiliare utilizate.

Studiile efectuate la nivel de laborator au condus la formularea a trei pulberi antibacteriene şi antifungice de uz veterinar după cum urmează:

- **pulbere otică**, conţine ca principii active 10% rifampicină şi 2% nistatină, iar dintre substanţele auxiliare, anestezină pentru efectul calmant, oxid de zinc pentru proprietăţile antiseptică, astringentă, adsorbantă şi sicativă, şi talc, folosit ca lubrefiant şi adsorbant.

- **pulbere cicatrizantă**, conţine ca principiu activ rifampicina în cantitate de 1%, iar ca ingrediente sulfat de magneziu anhidru, utilizat pentru capacitatea sa de a reţine apa, lactoză ca adsorbant şi substanţă antistatică.

- **pulbere de uz ginecologic**, conţine ca principii active 20% rifampicină şi 2% nistatină, iar ca excipienţi acid citric care are atât rolul de a asigura preparatului un pH compatibil cu cel al locului de aplicare, cât şi de stabilizator pentru substanţele uşor oxidabile, lactoză utilizată ca adsorbant şi substanţă antistatică.

Rezultate şi discuţii

În urma studiilor efectuate la nivel de laborator au fost formulate şi preparate trei pulberi antibacteriene şi antifungice de uz veterinar după cum urmează:

- **RIFAOT**, pulbere otică cu spectru antibacterian şi antimicotic larg, recomandată în tratamentul otitei externe exsudative, supurative şi ulceroase la carnivore (în principal, câini şi pisici) datorate infecţiilor cu germeni patogeni gram pozitivi, gram negativi şi fungi, precum şi în tratarea leziunulor determinate de virusuri epiteliotrope (ex. Zona Zoster) cu localizare auriculară în vederea prevenirii suprainfecţiilor. Produsul poate fi utilizat şi la alte specii de animale (cabaline, suine şi bovine). Aplicarea produsului se face prin pudrare în conductul auditiv, după o prealabilă toaletare, zilnic, timp de 4-5 zile.

- **RIFATROL**, pulbere cicatrizantă cu acţiune antiinfecţioasă şi calmantă, indicată în terapia plăgilor operatorii suturate şi nesuturate, a celor accidentale, indiferent de localizare, furuncule, abcese şi în Zona Zoster cu localizare cutanată. Produsul este adresat la toate speciile de animale (în principal, carnivore, cabaline, taurine, ovine şi suine). Aplicarea produsului se face prin pudrare în conductul auditiv, după o prealabilă toaletare, zilnic, timp de 4-5 zile sau mai mult, dacă este necesar.

- **RIFAGIN**, pulbere de uz ginecologic recomandată pentru tratarea afecţiunilor aparatului genital femel de natură bacteriană şi/sau micotică şi, în mod special, pentru tratamentul endometritelor acute sau cronice, atât la animalele de rentă, cât şi la cele de companie.

Concluzii

Pulberile antibacteriene şi antifungice de uz veterinar, **RIFAOT**, **RIFATROL** şi **RIFAGIN**, studiate în cadrul programului **RELANSIN**, au primit Aviz de oportunitate din partea Comisiei pentru autorizarea, înregistrarea şi supravegherea produselor farmaceutice veterinare şi a altor produse de uz

veterinar. În vederea obţinerii autorizaţiei de fabricaţie, au fost realizate seriile zero din fiecare produs la Institutul pentru Controlul Produselor Biologice şi Medicamentelor de Uz Veterinar Bucureşti, însoţite de documentaţia tehnică pentru controlul de laborator

Bibliografie

1. F.W.GOODHART, P.J.WELLER, Handbook of Pharmaceutical Excipients, 2 nd Edition, 1994.
2. IOAN GRECU, ELENA CUREA, Stabilitatea medicamentelor, Editura Medicală, Bucureşti, 1987.
3. IOAN GRECU, VALERIU POPOVICI, Substanţe farmaceutice auxiliare, Editura Facla, Timişoara, 1988.
4. L. CISER, C. GALIANO, I. GEORGESCU, Indexul produselor de uz veterinar din import, Editura Ceres, Bucureşti, 1995.
5. MARIA GOLĂESCU, Diagnosticul şi tratamentul micozelor interne, Editura Viaţa Medicală Românească, 1977.
6. MIRCEA ANGELESCU, Terapia cu antibiotice, Editura Medicală, Bucureşti, 1998.
7. Nomenclatorul produselor de uz veterinar, Romvac Company S.A., 1996.
8. PATRICK CROWLEY, LUIGI MARTINI, Pharmaceutical Technology Europe, Vol.13, Nr.3, Martie, 2001.
9. PAUL CURA, Farmacologie, Editura Medicală, Bucureşti, 1998.
10. VICTOR STĂNESCU, Tehnică farmaceutică, Editura Medicală, Bucureşti, 1983.

TELEKIA SPECIOSA (SCHREB.) BAUMG. POSIBILĂ SURSĂ DE COMPUŞI CU ACŢIUNE ASUPRA *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS*

M. Hancianu, Antonia Poiata, Anca Miron, C. Tuchilus, D. Diculencu, A. Spac, V. Dorneanu, C. Aprotosoaie, Ursula Stănescu

Facultatea de Farmacie, Universitatea de Medicina si Farmacie "Gr. T. Popa" Iasi

Abstract

Mycobacterium tuberculosis is one of the most important human pathogens which causes worldwide a greater than 8 million new infections annually and more than 3 million people die of this disease each year. Thus there is an urgent need for new effective antimycobacterial agents. In this instance, the aim of this study was to evaluate the *in vitro* antimycobacterial activity of two crude plant extracts; the root extract (Tr) and the leaf extract (Tf) of *Telekia speciosa* (Schreb.) Baumg.

Introducere

În ultimii ani, la nivel mondial, se constată o creştere alarmantă a numărului de cazuri de tuberculoză. Se estimează că anual peste 8 milioane de persoane sunt infectate cu *Mycobacterium tuberculosis,* iar peste 3,5 milioane de oameni mor din cauza tuberculozei.

Cu acest înfricoşător bilanţ, tuberculoza se situează pe primul loc, între afecţiunile provocate de agenţi patogeni umani, devansând ca morbiditate SIDA, malaria, diareea infecţioasă, lepra sau alte afecţiuni tropicale (Cowan, 1999).

Tuberculoza pulmonară este cea mai frecventă afecţiune provocată de *M.tuberculosis* şi apare ca urmare a inhalării agentului patogen de la un pacient deja infectat.

Mai mult de o treime din populaţie vine în contact cu *M. tuberculosis*, dar numai 10% dintre aceste persoane dezvoltă afecţiunea (tuberculoza), în special cei al căror sistem imunitar funcţionează deficitar (Raviglione, 1995).

Medicaţia antituberculoasă specifică cuprinde chimioterapice de sinteză şi antibiotice. Dintre medicamentele de prima alegere fac parte: izoniazida, etambutolul, rifampicina şi streptomicina.

În ciuda acestui fapt, din anii '80 se constată o revenire spectaculoasă a infecţiilor cu *M. tuberculosis*, datorată în primul rând apariţiei unor tulpini rezistente la medicamentele tuberculostatice (Schimato, 1987). La noi în ţară ca

factori favorizanţi se adaugă sărăcia, igiena precară şi insuficienta educaţie sanitară.

Material şi metodă

Telekia speciosa (fam *Asteraceae*) este o specie frecvent întâlnită în zona de deal şi de munte şi totodată cunoscută şi utilizată în medicina tradiţională. Cercetările anterioare, realizate în laboratorul de Farmacognozie al Facultăţii de Farmacie din Iaşi, au evidenţiat prezenţa în compoziţia chimică a acestei plante a unor eudesmanolide, printre care alanto- şi izoalantolactona.

Pornind de la necesitatea identificării unor noi substanţe cu potenţial antimicobacterian, dar şi de la o serie de menţiuni din literatura de specialitate (Cowan, 1999) care au evidenţiat această proprietate pentru unele sescviterpene, am realizat două extracte care au fost investigate din acest punct de vedere.

Astfel, organele subterane, respectiv frunzele recoltate de la specia ***Telekia speciosa,*** au fost prelucrate în vederea obţinerii unor extracte bogate în componente sescviterpenice. Produsele vegetale au fost recoltate în luna august (în perioada de înflorire din judeţul Suceava). Materialul vegetal, uscat şi pulverizat a fost extras cu hexan, la rece, solventul a fost evaporat, iar reziduul a fost spălat cu un amestec de apă:etanol în proporţie de 1:2. După spălare porţiunile hidro-alcoolice au fost concentrate şi supuse unei cromatografii pe coloana de silicagel. Coloanele au fost eluate cu eter, iar fracţiunile obţinute reluate cu metanol. S-au obţinut astfel extractele codificate Tr (extractul obţinut din partea subterana) şi respectiv Tf (extractul obţinut din frunze).

Bacilul Koch cultivă numai pe medii complexe, îmbogăţite. Mediul Lovenstein-Jensen, pe bază de ou, glicerina, asparagina este larg folosit pentru izolarea *M. tuberculosis* din prelevate patologice. La temperatura de 35-37°C cultivă lent, după 2-4 săptămâni apar la suprafaţa mediului colonii rugoase conopidiforme, de culoare crem. În acest mediu au fost încorporate diluţii ale extractelor Tr şi Tf.

Drept microorganisme test au fost utilizate tulpini izolate de la pacienţi diagnosticaţi cu tuberculoza pulmonară. S-au utilizat 3 tulpini de *M. tuberculosis* HIN rezistente, 3 tulpini HIn şi RIF rezistente, 4 tulpini sensibile şi tulpina H37Rv de referinţă. Culturile au fost citite la 2 săptămâni şi mai apoi la 4 săptămâni.

În continuare, extractele au fost supuse unui studiu chimic care a urmărit evidenţierea componentelor sescviterpenice.

Astfel, am apelat la analiza gaz-cromatografică cuplată cu spectroscopie de masă, care a stabilit prezenţa, în ambele extracte, a izoalantolactonei. În continuare, sunt prezentate condiţiile de cromatografiere.

Analiza chimică calitativă - tehnică GC/MS: Gaz-cromatograf - HP 5890 Series II GC, spectrometru de masa - HP 5971, coloana cromatografică capilară HP-5MS (25mm x 0,25mm x 0,25 µl)(crosslinked methyl silicone gumm), faza mobilă: He 1ml/min., regimul de temperatură: 40°C staţionar 5 min, 10°C/min

până la 260°C, staţionar 5 min., temperatura injectorului 250°C, proba injectată: Tf/Tr dizolvată în metanol (biblioteca de date Wiley).

Rezultate şi discuţii

Rezultatele înregistrate în urma studiului microbiologic sunt prezentate în tabelul 1.

Tabelul 1: Rezultatele studiului microbiologic

Tipul de tulpina (nr. de tulpini)	Concentraţia minimă inhibitorie (MIC) μg/ml	
	Tr	**Tf**
M. tuberculosis HIN rezistent (3)	64	32
M. tuberculosis HIN + RIF rezistent (3)	64	32
M. tuberculosis (sensibil) (4)	128	32
M. tuberculosis H37Rv (tulpina de referinta)	128	32

Valorile înregistrate evidenţiază, pentru ambele extracte investigate, existenţa unei activităţi antimicobacteriene, mai pronunţată pentru extractul obţinut din frunzele de ***Telekia speciosa***. În cazul acestui extract (Tf) concentraţiile minime inhibitorii sunt aceleaşi pentru toate tipurile de tulpini testate (32 μg/ml), ceea ce presupune o activitate antimicobacteriană susţinută şi asupra tulpinilor de *M. tuberculosis* HIN şi RIF rezistente.

Analiza chimică calitativă realizată prin tehnica GC/MS a evidenţiat existenţa în probele analizate (Tr şi Tf) a unor componente volatile dar şi a sesciviterpenelor. Aşa cum ne aşteptam, ambele probe investigate conţin izoalantolactona; extractul din frunze codificat Tf conţine 22,01% izoalantolactonă, în timp ce extractul realizat din rădăcini (Tr) conţine 2,98% din aceeaşi substanţă. Gaz-cromatogramele corespunzătoare extractelor Tr şi Tf sunt prezentate în figurile 1, 2.

Studiul de faţă a urmărit realizarea din părţile aeriene, precum şi din părţile subterane ale speciei ***Telekia speciosa*** a unor extracte bogate în sesciviterpene, precum şi investigarea potenţialului antimicobacterian al acestor extracte.

Rezultatele obţinute concordă cu datele din literatura de specialitate care indică, în cadrul unor experimente similare, *in vitro*, valori ale concentraţiei minime inhibitorii între 30 şi 100 μg/ml pentru eudesmanolide (Cantrell et al. 1999). Studiile viitoare vor urmări, alături de precizarea compoziţiei chimice cantitative a celor doua extracte, si reproductibilitatea activitatii antimicobacteriene *in vivo*. Aceasta deoarece se stie că *M.tuberculosis* este un microorganism strict intracelular.

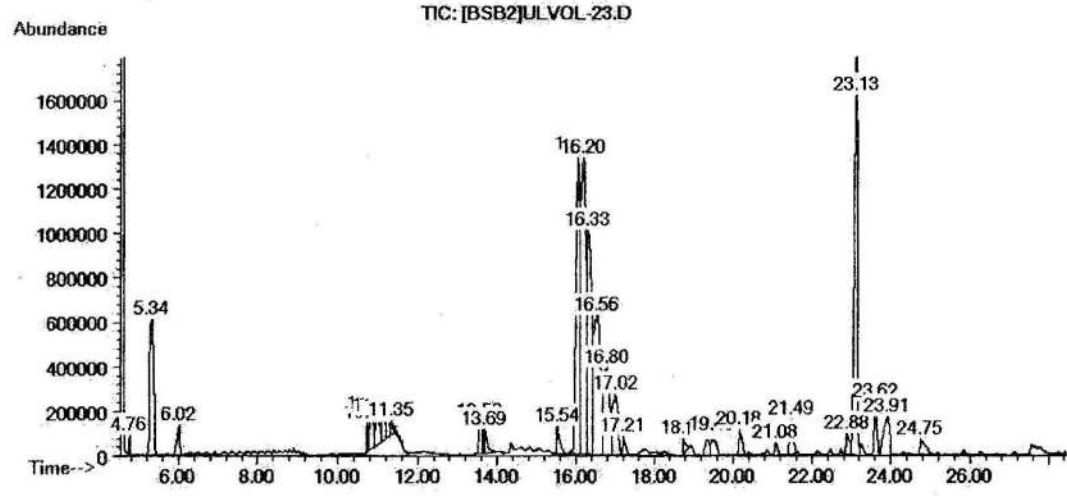


Fig. 1: Analiza gaz-cromatografica a extractului Tr

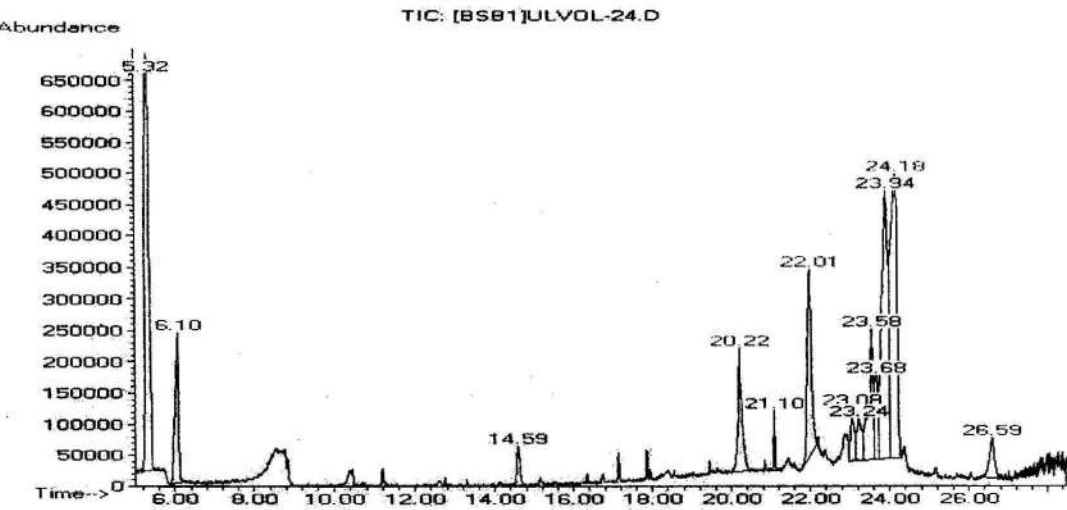


Fig. 2: Analiza gaz-cromatografica a extractului

Bibliografie:

1. CANTRELL C.L., ABATE L., FRONCZEK F.R., FRANZBLAU S.G., QUIJANO L., FISCHER N.H., Antimycobacterial Eudesmanolides from Inula helenium and Rubdeckia subtomentosa; Planta Medica, 1999 (65), 351-355.
2. COWAN M.M., Plant Products as Antimicrobial Agents, Clinical Microbiology Reviews, 1999, 564-582.
3. RAVIGLIONE M.C., SNIDER D.E., KOCHI A., Global epidemiology of tuberculosis. Morbidity and mortality of worldwide epidemic, JAMA, 1995, 273, 220-226.
4. SCHIMATO T., Drug resistance in tuberculosis control, Tubercle, 1987, 68, suppl.2, 5-18.

PROCEDEU DE OBȚINERE A FORMEI CRISTALINE DE MAXIMĂ STABILITATE A CEFTRIAXONEI DISODICE

Cristina Mihai, Amelia Neacşu, Virginia Asandului,
Maricica Anițucăi
Centrul de Cercetări pentru Antibiotice S.A., Iaşi

Abstract
Ceftriaxone, the disodic salt of 7-{2-(2-aminothiazol-4-yl)-2-(sin)-methoxyiminoacetamidol}-3-(2-methyl-5-oxo-6-hydroxy 2,5-dyhydro-1,2,4-triazin-3-yl-thiomethyl)-cephalosporanic acid, is the first antibiotic of the β lactam group to possesses a long elimination half-life.
Ceftriaxone diffuses rapidly to the site of infection where it maintains an effective antibacterial concentration for more than 24 hours. As a result, a single dose of ceftriaxone daily is sufficient. Futher research have led us to a new procedure of obtaining disodium ceftriaxone through crystallization from water-acetone medium.

Ceftriaxona, sarea disodică a acidului 7-[2-(2-aminotiazol-4-il)-2-(sin)-metoxiiminoacetamido]-3-(2-metil-5-oxo-6-hidroxi-2,5-dihidro-1,2,4-triazin-3-il-tiometil) cefalosporanic(VII), cefalosporină de generația a III-a de mare valoare terapeutică, este antibioticul β-lactamic cu cel mai lung timp de înjumătățire a concentrației serice (cca.8 ore) care realizează după 24 de ore nivele serice eficiente terapeutic, fiind posibilă administrarea sa într-o singură doză zilnică.

Sinteza ceftriaxonei presupune folosirea ca materii prime de bază a acidului 2-(2-cloracetamidotiazol-4-il)-2-(sin)-metoxiiminoacetic, a aci-dului 7-aminocefalosporanic (A7AC) şi a triazinei corespunzătoare şi cuprinde următoarele etape:

- deplasarea nucleofilă a grupei 3-acetoxi din A7AC cu triazina corespunzătoare
- transformarea acidului catenă laterală într-o formă uşor reacționabilă;
- acilarea A7AC-3-modificat;
- deprotejarea grupei aminice;
- transformarea într-o formă acceptabilă din punct de vedere farmaceutic

Chimismul procesului este prezentat în schema nr. 1.

În literatura referitoare la sinteza cefalosporinelor de tip ceftriaxonă, sărurile de sodiu se obțin prin metoda, în sine cunoscută în domeniul antibioticelor β-lactamice, de transformare a cefalosporinei acid în mediu de apă-solvent organic

miscibil cu apa (MeOH, EtOH, acetonă,etc), folosind ca donor de sodiu 2-etilhexanoatul de sodiu (2-EHNa) şi precipitare cu nesolvent. Pe acest principiu s-a elaborat un procedeu optimizat de sinteză a ceftriaxonei disodice (CFXNa), procedeu care se caracterizează prin parametrii din tabelul nr.1.

Tabel nr.1. Parametrii optimi la sinteza CFXNa prin precipitare.

Condiţii de reacţie, UM	Valoare
Mediu de reacţie	Amestec apă:AN (1:1)
Donor de sodiu	2-EHNa în MeOH
pH	5,5-6
Timp de perfectare reacţie, min.	30
Nesolvent	Acetonă, 75ml/gCFX acid
Timp de perfectare precipitare, min.	30
Randament, %	80-82

S-a constatat că prin această metodă se obţine o CFXNa corespunzătoare tuturor indicilor impuşi de farmacopeele de uz internaţional, dar care prezintă un grad ridicat de instabilitate, aşa după cum rezultă din tabelul nr.2.

Tabel nr. 2. Stabilitatea CFXNa obţinute prin precipitare

Temp. °C	Timp luni	Aspect	Umidi tate, %	Conţinut		CSS Impurit. %
				Microbi-ologic,%	HPLC, %	
25	0	pulbere albă	9,97	96,5	96,5	<5
	3	pulbere alb-gălbuie	9,96	89,8	88,8	>5
	6	pulbere alb-gălbuie	9,90	87,5	87,8	>5
37	3	pulb.slab-gălbuie	9,98	86,0	85,7	>5
	6	pulb.slab-gălbuie	9,93	83,2	83,8	>5
50	3	pulbere gălbuie	9,90	67,0	69,6	>5
	6	pulbere gălbuie	9,92	66,2	68,0	>5

Deoarece iniţial produsul era corespunzător din punct de vedere calitativ, răspunzătoare pentru această instabilitate pronunţată nu poate fi decât forma cristalină, cu toate că literatura nu specifică existenţa mai multor forme cristaline şi nici care este forma cristalină stabilă. În sprijinul acestei ipoteze vine şi studiul spectrelor IR al probelor sintetizate în raport cu al referinţei (fig.1).

Din cercetările efectuate s-a evidenţiat faptul că la o anumită concentraţie a mediului hidroacetonic de la prepararea sării de sodiu, aceasta cristalizează. Plecând de la această observaţie, s-au iniţiat cercetări cu privire la obţinerea CFXNa prin cristalizare.

Primele experimente au fost efectuate folosind ca mediu de reacţie

amestecul apă:AN (1:1), ca donor de sodiu soluția metanolică de 2-EHNa și ca solvent pentru inițierea cristalizării acetona. Deoarece la acest sistem de solvenți s-a constatat existența unor limite foarte apropiate între cantitatea de acetonă care produce cristalizarea și cea care determină cleificarea produsului, s-a căutat înlocuirea AN cu alt solvent.

Cercetările efectuate au condus la stabilirea sistemului optim de solvenți pentru obținerea CFXNa prin cristalizare care constă în folosirea ca mediu de reacție a amestecului apă:acetonă (1:1), a soluției de 2-EHNa în AcOEt ca donor de sodiu și a acetonei ca solvent pentru inițierea cristalizării. În acest caz mediul de reacție este eterogen, prezentând avantajul că faza organică extrage o parte din impuritățile existente în soluție. După separarea acesteia, faza apoasă care conține CFXNa se decolorează, apoi se tratează lent, sub agitare, cu acetonă până la opalescență slabă (6-8ml/g CFX acid). Pentru stabilirea condițiilor optime de conducere a cristalizării s-au luat în considerație mai multe variante, prezentate în tabelul nr. 3. Calitatea produselor obținute a fost apreciată prin HPLC, CSS și spectre IR.

Tabel nr. 3. Variante de cristalizare a CFXNa.

Nr. crt.	Volum acetonă adăugat la perfectare cristaliz. ml/gCFXacid	Timp perfectare cristaliz., ore	Rand. %	Calitate CFXNa, C_{HPLC}, %	Observații
1.	-	0,5	43,0	98,3	
2.	-	2,0	48,9	98,1	
3.	-	3,5	51,1	98,0	
4.	12,0	1,0	71,3	97,8	
5.	12,0	3,5	75,6	97,6	Cristal f. ușor electrizabil
6.	12,0	2,5	73,9	93,8	Răcire la 0-5°C în ultimele 30 min.
7.	14,0	2,0	77,1	97,6	
8.	14,0	2,5	78,87	97,4	
9.	18,0	2,0	76,8	97,1	
10.	18,0	2,5	78,9	96,8	
11.	24,0	1,0	78,3	93,3	
12.	24,0	2,5	79,5	92,8	

S-au făcut următoarele constatări:

- experimentele care folosesc doar cantitatea de acetonă necesară pentru inițierea cristalizării conduc la obținerea produsului cel mai pur, dar randamentele sunt foarte mici (<50%);
- în cazul folosirii unor cantități suplimentare de acetonă, adăugate pe parcursul perfectării cristalizării, are loc o creștere considerabilă a randamentului

cristalizării, în paralel cu o scădere uşoară a calităţii CFXNa obţinute;

- un timp lung de perfectare a cristalizării determină obţinerea unui cristal uşor electrizabil;

- perfectarea cristalizării la temperatură scăzută în vederea măririi randamentului conduce la o creştere nesemnificativă a randamentului în paralel cu o scădere semnificativă a purităţii produsului;

- analiza spectrelor IR ale produselor obţinute a evidenţiat, la toate variantele luate în lucru, existenţa formei cristaline stabile.

Cercetările efectuate au condus la elaborarea unui procedeu de obţinere a formei cristaline de maximă stabilitate a CFXNa, procedeu care se caracterizează prin parametrii din tabelul nr. 4.

Tabel nr. 4. Parametrii optimi la sinteza CFXNa prin cristalizare.

Conditii de reactie,UM	Valoare
Mediu de reacţie	Amestec apă:acetonă (1:1)
Donor de sodiu	2-EHNa în AcOEt
pH	5,5-6
Solvent pt. iniţiere cristalizare	Acetonă, 6-8 ml/g CFX acid
Timp perfectare reacţie, min.	30
Adaos acetonă la faza de perfectare a cristalizării, ml/g CFX acid	14
Timp perfectare cristalizare, ore	2,5
Randament, %	78-80

CFXNa obţinută prin acest procedeu se caracterizează printr-o stabilitate ridicată, aşa după cum se observă din testele de stabilitate prezentate în tabelul nr. 5.

Tabel nr. 5. Stabilitatea CFXNa obţinută prin cristalizare.

Temp. ^0C	Timp luni	Aspect	Umidi-tate, %	Conţ. microb. %	% HPLC	CSS impurit. %
25	0	pulbere albă	9,4	100	100	<5
	3	pulbere albă	9,45	100	100	<5
	6	pulbere albă	9,41	100	100	<5
37	3	pulbere alb-gălbuie	9,38	98	99,6	<5
	6	pulbere alb-gălbuie	9,43	98	98,8	<5
50	3	pulbere slab-gălbuie	9,44	96	97,5	<5
	6	pulbere gălbuie	9,42	96	96,9	<5

În concluzie, s-a elaborat un procedeu de obţinere a ceftriaxonei disodice prin cristalizare, aplicabil la scară industrială, care în comparaţie cu procedeul clasic de obţinere a sării disodice prin precipitare, prezintă următoarele avantaje:

- asigură reproductibilitatea formei cristaline stabile;
- conduce la obținerea unui produs de puritate ridicată, corespunzător tuturor indicilor impuşi de farmacopeele de uz internațional;
- reduce considerabil consumul de acetonă;
- conduce la un produs cu filtrabilitate mult mai bună decât cel obținut prin precipitare.

O NOUĂ CLASĂ DE CHIMIOTERAPICE ANTIBACTERIENE

OXAZOLIDINONELE

M. Nechifor[1], Cristina Nechifor[2]
[1] *Catedra de Farmacologie, Universitatea de Medicina si Farmacie "Gr. T. Popa" Iasi, ROMANIA*
[2] *Studentă U.M.F. "Gr. T. Popa", Iaşi*

Abstract
There is a new therapeutic group of antibacterial chemotherapics introduced on the market by Pharmacia Upjohn Inc and used in therapeutical practice starting with year 2000. 2 substances from this group, LINEZOLID and EPEREZOLID, were clinically tested but in practice is used Linezolid (Zyvox ^{R}). Linezolid is structurally (S)-N-[3-[3-fluoro-4- (4-morfolinyl)-phenil]- 2 oxo-5 – oxazolidinones. As mechanism of action these medicines are a principal progress, inhibiting synthesis of bacterial proteins by action on 70S subunit of bacterial ribosome. Inhibition of bacterial synthesis emerges in a more previous stage like other chemotherapics with the same mechanism of action. The antibacterial spectrum include G+ bacteria (also multiresistent G+ bacteria as vancomycin-resistant enterococci and glycopeptide –resistant staphylococci). Linezolid has around 100% bioavailability (after oral administration) being completely absorbed from gut. It is the first efficient chemotherapic with oral administration vs. vancomycin-resistant enterococci . Oxazolidinones act also on some anaerobe G-bacteria but not on aerobe G- bacteria.
Side effects are digestive, allergies and in the case of long therapy rare cases of mielodepression. There are many possibilities for associations between linezolid and other antibacterial chemiotherapics.
We consider that this new class of chemotherapics represents one of the most important progresses in the last years in the therapy of severe bacterial infections.

Oxazolidinonele sunt o nouă clasă de chimioterapice antibacteriene.

Linezolidul (PNU-100766) (Zyvox^{R}) este primul medicament din această grupă aprobat de FDA şi prezent pe piaţă în SUA şi în alte state (Stevens şi colab. 2000, Zargensen şi colab.1997).

Substanţele din această grupă s-au dovedit a fi deosebit de active contra

bacteriilor **Gram pozitive multi-rezistente la chimioterapice.**

Din punct de vedere structural linezolidul este (S)-N-[(3-[3-fluoro-4-(4-morpholinye) phenil]-2-oxo-5-oxazolidinie] metil]-acetamidă.

Linezolidul sub denumirea de ZYVOX^R a fost introdus pe piață în anul 2000 de Pharmacia Upjohn Inc.

Spectrul antimicrobian cuprinde:

- bacterii Gram pozitive în general;
- *Enterococcus faecinum* rezistent la vancomicină;
- *Staphylococcus aureus* rezistent la meticilină;
- *Streptococcus pneumoniae* rezistent la penicilină.

Linezolidul este PRIMUL MEDICAMENT ce se poate administra ORAL eficient față de enterococii rezistenți la VANCOMICINĂ.

Şi **câteva bacterii Gram negative anaerobe** se includ în spectrul de acțiune dar **nici o bacterie Gram negativă aerobă.**

MIC pentru *S.pneumoniae* este în cele mai multe situații de 0,5-1μg/ml, iar față de *Staphylococcus aureus* rezistent la vancomicină de 1-4μg/ml .

Studii recente arată că linezolidul este eficient față de *NOCARDIA spp.*

Linezolidul pare a fi mai eficient decât eperezolidul (Bowersock şi colab. 2000) cel puțin față de unele bacterii patogene.

Dintre anaerobi Linezolidul este activ față de:

-C.difficile;

-C.perfringens;

-Peptostreptococcus sp.;

-Bacteroides fragillis.

Mecanism de acțiune

Linezolidul este primul medicament antibacterian care acționează prin INHIBIȚIA SINTEZEI DE PROTEINE BACTERIENE, acționând la **subunitatea 70 S a ribozomului bacterian.**

Este : -BACTERIOSTATIC față de unele bacterii (ex. enterococi).

-BACTERICID față de pneumococi.

O particularitate importantă a mecanismului de acțiune a linezolidului este INHIBAREA FAZEI DE INIȚIERE a sintezei proteice bacteriene (Slalter şi colab. 2001, Shinabarger şi colab. 1997)

Linezolidul este bactericid şi față de *Bacteroides fragilis, C.perfringens.* etc.

Linezolidul are şi un important efect postantibiotic (Marchese şi Schito 2001).

Datorită mecanismului de acțiune diferit NU există semnalări de rezistență bacteriană încrucişată cu alte grupe de chimioterapice antibacteriene (Hamel şi colab. 2000).

Farmacocinetica

Linezolidul este complet absorbit (100%) din intestin atunci când este administrat, biodisponibilitatea sa după administrarea pe cale internă fiind aproximativ egală cu cea obținută după administrarea intravenoasă.

Linezolidul se metabolizează preponderent hepatic prin oxidarea ciclului morfolinic.

Această metabolizare este independentă de sistemul enzimatic al citocromului P 450.

Din datele existente până acum, parametrii farmacocinetici ai linezolidului nu sunt afectați de sex sau vârstă (Fung și colab. 2001).

Circa 30% din doza administrată de linezolid se elimină prin rinichi nemetabolizat iar circa 50% din cantitatea de linezolid administrată se elimină prin rinichi sub formă de metaboliți.

Urmărind farmacocinetica linezolidului (Zyvox®) încărcat radioactiv, Slalter și colab. 2001 au constatat că după o doză de 500 mg în cele 4 zile următoare administrării s-au regăsit în fecale și urină 93,8±1,1% din radioactivitatea administrată (din cantitatea de produs mâncată).

Din totalul substanței administrate, 83,9±3,3% a fost găsit în urină și circa 9,9± 3,4% în materiile fecale.

Linezolidul a fost excretat sub două forme:

a) nemodificat chimic;
b) sub foma a doi metaboliți majori notați PNU-142586 și PNU-142300;
c) alți câțiva metaboliți minori (fig. nr. 1).

După o doză de linezolid de 600 mg, maximul concentrației plasmatice este de 21,2±5,78 μg/ml. Această concentrație maximă se obține la T max 1,03±0,62h. Evoluția concentrațiilor plasmatice ale linezolidului este arătată în figura nr. 2 (după Slatter și colab. 2001).

Clearence-ul total (renal și nerenal) este de 80±29 ml/min. S-a dovedit existența unei anume resorbții tubulare a linezolidului din urina primară.

Volumul aparent de distribuție este de 40-50 l sau legarea de proteinele plasmatice de 31%.

Concentrațiile plasmatice sunt cu mult peste CMI față de bacteriile din spectru.

Indicații și utilizări terapeutice

Principala indicație a linezolidului o constitue infecțiile cu bacterii G+ multirezistente.

O problemă terapeutică tot mai importantă o constituie tratamentul **pneumoniei nosocomiale.**

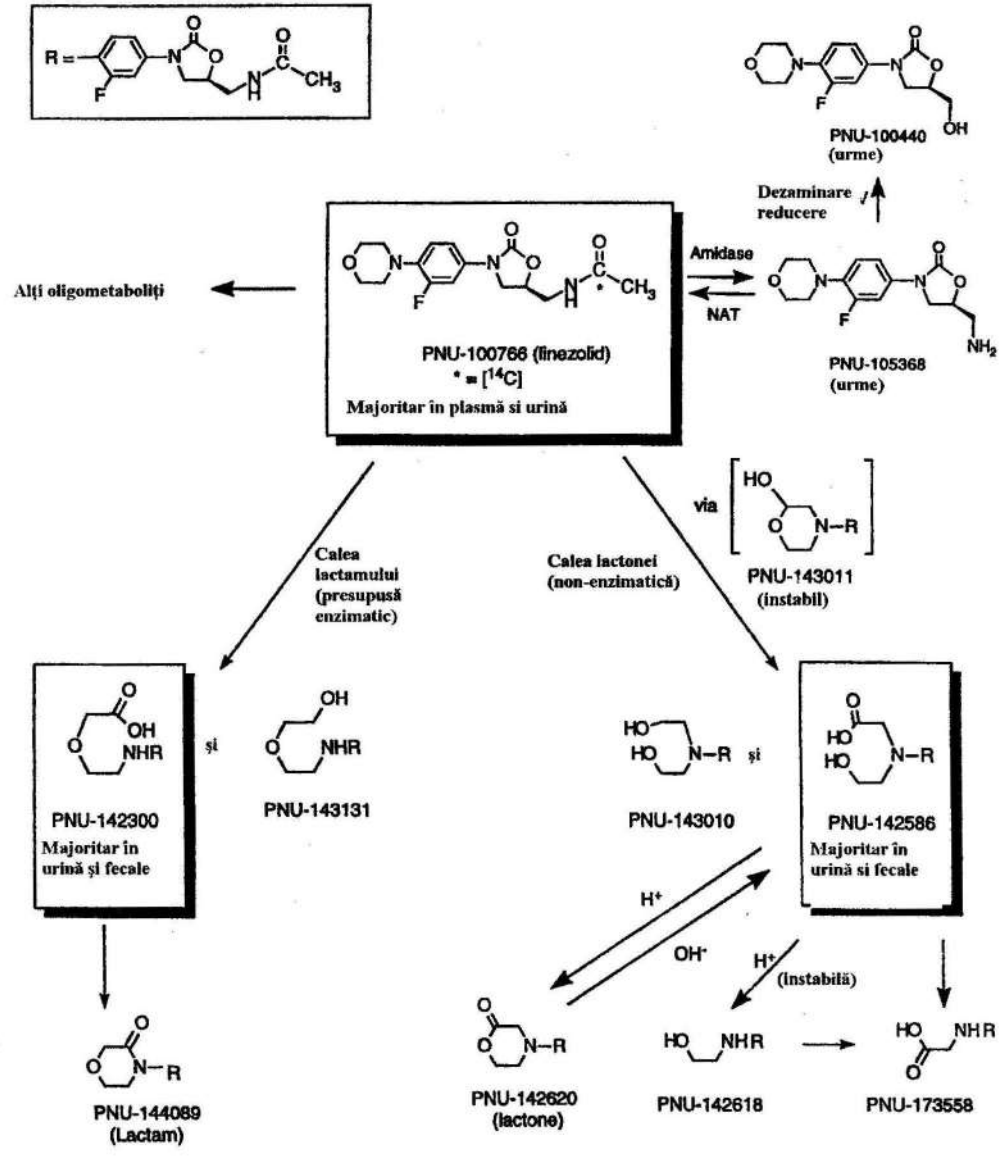


Fig. 1 Metabolizarea Linezolidului

După datele publicate de diferiți autori, pneumoniile nosocomiale constituie circa 15% din totalul infecțiilor nosocomiale în SUA și mai mult, adică până la 46% din infecțiile nosocomiale în Europa (Baughaman și colab. 1999, George 1995, Rubinstein și colab. 2001).

Pneumoniile nosocomiale au o evoluție adesea însoțită de complicații și

uneori se asociază cu sindromul de insuficienţă respiratorie, cu o lungime mare a timpului de spitalizare şi cu un cost ridicat al îngrijirilor spitaliceşti.

În ultimii 15 ani *Staphylococcus aureus* meticilino rezistent se întâlneşte tot mai frecvent ca bacteria patogenă a acestor pneumonii (NNIS).

În SUA în 1974 stafilococii meticilino rezistenţi produceau 2% dintre pneumoniile nosocomiale, pentru ca în 1991 să producă 29% şi procentul să crească în continuare (Panlilio şi colab. 1994, Fagon şi colab. 1998).

În aceste condiţii linezolidul este una dintre posibilităţile terapeutice cele mai importante şi uneori cea mai bună.

Practic, în aceste situaţii, principalele chimioterapice antibacteriene de utilizat sunt:

- linezolidul;
- vancomicina;
- aztreonamul.

O altă problemă o constituie **infecţiile bacteriene cutanate.**

Staphylococcus aureus meticilino rezistent (MRSA) este cea mai frecventă bacterie implicată în infecţiile cutanate.

Pe de altă parte,dacă se face o statistică a provenienţei tulpinilor de MRSA atunci Henwood şi colab. 2000 urmărind situaţia din 25 de spitale din Marea Britanie constată următoarele:

- 63,2%- din suşe provin din infecţii cutanate;
- 10,2%- din infecţii respiratorii;
- 7,6%- au fost izolate din sânge;
- 87,9%- din MRSA izolaţi, au fost rezistenţi la eutromicină şi 94,7% rezistenţi la ciprofloxacină.

Stafilococii coagulozo negativi izolaţi în infecţii ale SNC, în Anglia au fost în proporţie de:

- 68,9% rezistenţi la oxacilină;
- 26% rezistenţi la teicoplamină;
- peste 25% rezistenţi la gentamicină.

Toate aceste date indică faptul că **linezolidul (şi probabil şi alte oxazolidinone) sunt nu numai un progres principal în ceea ce priveşte mecanismul de acţiune antibacterian, dar şi foarte necesare în practica terapeutică**. De menţionat că CMI pentru linezolid în SNC este de 1mg/l pentru pneumococi şi 2mg/l pentru *S.aureus,* concentraţii clar depăşite de dozele uzuale terapeutice administrate.

-Linezolid 600mg i.v./oral de 2 ori/zi la pacienţi care **nu** răspund la vancomicină, 7 zile tratament

În pneumonia comunitară linezolidul 600 mg x 2/zi per os a fost la fel de eficient cu claritromicina 250 mg x 2 ori/zi per os şi cu cefpodoxina proxetil 200 mg x 2/zi (Perry şi Jarvis 2001).

Linezolidul este SUPERIOR cefalosporinelor la pacienţii cu bacteriemie (vindecare 93% la LINEZOLID, numai 63% la cefalosporine).

Incidența efectelor secundare a fost de 21% din pacienți la LINEZOLID, față de 11,2% la cefalosporine.

În terapia pneumoniei cu *S.pneumoniae* și *Stafilococ* meticilino rezistent la copii între 1-12 ani, linezolidul dă o rată de vindecare de 92,4% la o durată medie de terapie de 12,2±6,2 zile. Ca efecte adverse: diaree la 10% dintre copii, neutropenie la 6,4%, creșterea ALAT 6,4% (alanin aminotransferaza) (Kaplan și colab.)

Rezultatele sunt considerate ca fiind excelente.

Moise și colab.2002, Dailey și colab.2001 au arătat că linezolidul este eficient în tratamentul **endocarditei** produse de *Staphylococcus aureus* meticilino rezistent.

În **meningitele date de enterococi vancomicino rezistenți** (rare, dar adesea fatale) se obțin vindecări cu 600 mg linezolid i.v. la 12 ore. După un astfel de regim de administrare se obțin concentrații plasmatice maxime de linezolid de 11,45 μg/ml și concentrații în LCR de3,19 μg/ml (față de un CMI de < 0,75μg/ml) (Shaikh și colab. 2001)

Linezolidul atinge concentrații mai mari decât cele necesare pentru vindecarea clinică și bacteriologică.

Analizând sensibilitatea stafilococilor și enterococilor față de linezolid și alte chimioterapice antibacteriene în 141 de centre din America de Nord (peste 18300 de izolate bacteriene), Baelowe și colab. 2002 au arătat că 38,7% din izolatele de *Staphylococcus aureus* erau rezistente la oxacilină, iar dacă se lua în considerație numai *Staphylococcus* coagulozo negativ atunci:

- 70,6% dintre izolate erau rezistente la oxacilină;
- 65,9% dintre izolatele de *Enterococcus faecium* erau rezistente la vancomicină.

În același studiu s-a arătat că 37% din tulpinile de *Streptococcus pneumoniae* testate erau rezistente la Penicilina G. Linezolidul s-a dovedit activ față de toate aceste tulpini. Pentru *Stafilococi*, în 94% din cazuri CMI pentru linezolid a fost între 1-4 μg/ml, pentru enterococi în 94% din cazuri CMI a fost între 1-2 μg/ml, iar pentru *Streptococi* CMI a fost de 0,5-1 μg/ml.

Datele clinice arată că 600 mg i.v. sau oral de linezolid la 12 ore au o eficiență superioară dozelor de 1g de vancomicină în terapia pneumoniei comunitare (communitary-acquired pneumonia) (rata de succes la linezolid peste 94%) și în infecții ale țesuturilor moi.

Această doză de linezolid (600 mg la 12 ore) vindecă clinic peste 85% dintre infecțiile cu enterococi vancomicino–rezistenți (Clement și Markham 2000).

Analizând eficiența linezolidului comparativ cu cea a oxacilinei și dicloxacilinei în infecții complicate cutanate și ale țesuturilor moi date de *Streptococcus pyogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae* și alți streptococi din grupul C s-a constatat că 600 mg linezolid i.v. la 12 ore are o eficiență ceva mai ridicată decât 2 g oxacilină i.v. la 12 ore sau 500mg

dicloxaclocilină per os la 12 ore (rata vindecărilor clinice 88,6% pentru linezolid şi 85% pentru oxacilină-dicloxacilină) (Stevens şi colab. 2000).

Dacă luăm în considerație numai infecțiile date de stafilococi (*S.aureus*), diferența este mai mare: 91,4% vindecare la linezoid şi numai 84% vindecare la oxicilină-dicloxacilină.

Wallace şi colab. 2001 au testat acțiunea linezolidului asupra a diferite specii de *Mycobacteria* cu creştere rapidă, arătând că acest medicament este eficient şi față de *Mycobacteria* (chiar dacă CMI este în general mai ridicat decât față de pneumococ, enterococul vancomicino-rezistent sau stafilococul rezistent la meticilină).

Față de spaciile din genul *Mycobacterium* pe care a fost testat, linezolidul are următoarele valori ale CMI_{90}:

M.mucogenicum 1 μg/ml
M.fortuitum 4 μg/ml
M.chelonae 16 μg/ml
M.abcessus 32 μg/ml
etc.

Față de concentrațiile serice de 15-20 μg/ml, atinse cu doze medii uzuale de linezolid, se poate afirma că există un potențial de acțiune antibacteriană clar al linezolidului şi față de aceste specii bacteriene.

Faptul este important deoarece există doar un număr redus de medicamente active față de aceste bacterii (şi un număr mai mic care pot fi administrate pe cale orală).

Astfel, față de *M.chelonae* şi *M.abcessus*, aşa după cum arată Wallace şi colab. 1997, în afară de claritromicină (şi eventual alte 1-2 macrolide) nu există alte medicamente eficiente pe cale orală. Infecțiile non tuberculoase cu micobacterii sunt tot mai frecvente şi pun probleme terapeutice.

Asocieri terapeutice

Dintre asocierile terapeutice de interes dintre linezolid şi alte chimioterapice antibacteriene menționăm:

Linezolid + piperacilina
Linezolid + aztreonam

Zhang şi colab. 2000 au studiat posibilitatea sub raportul stabilității, amestecării în seringă sau soluția de perfuzat a acestor substanțe şi au constat că linezolidul 200mg/100ml soluție poate fi administrat împreună cu aztreonamul.

Terapia cu linezolid (administrat singur) a durat în medie 9,6±4,4 zile.

Efecte secundare şi adverse

Sunt relativ puține: Linezolidul este bine tolerat (Haw 2002).

Cele mai comune efecte secundare sunt cele:

- gastrointestinale (greață,vomă,diaree).
- hematologice.

Efectele secundare şi adverse notabile apar la circa 18% dintre pacienţii trataţi.

Este un slab inhibitor reversibil de MAO (monoaminoxidază), dar nu s-au raportat manifestări clinice ţinând de sistemele adrenergice sau seretonergice din organism.

Efectele **hematologice** sunt cele mai redutabile efecte secundare ale acestui medicament:

- Trombocitopenia apare după 14 zile de tratament;
- Neutropenie rară;
- Depresie medulară reversibilă rară;
- Anemie feriprivă regenerativă (cam la 5% din cei trataţi).

Mielodepresia este dependentă de <u>doză</u> şi de <u>durata tratamentului</u>. Apare rar, şi în general, a fost semnalată la doze de peste un gram pe zi şi o durată a tratamentului de 28 de zile sau mai mare.

Analizând incidenţa trombocitopeniei (număr de plachete sub 100000/mm^3), Attassi şi colab. 2002 au observat că acest efect secundar apare după 10 zile de terapie la circa 32% dintre pacienţii trataţi şi că trebuie monitorizaţi din acest punct de vedere pacienţii cu tratamente cu linezolid mai lungi de 10 zile. Deşi excreţia de catecolamine creşte uşor după linezolid (consecinţă a inhibării MAO) nu se impun restricţii alimentare (faţă de alimentele ce conţin tiramină) la persoanele ce primesc terapie cu acest medicament (Antal şi colab. 2001).

Incidenţa efectelor secundare a fost obţinută în condiţiile terapiei unor infecţii severe (dintre pacienţi 46% aveau bacteriemie, 10,6% endocardite bacteriene, 10,7% osteomielite etc.), iar procentul vindecărilor clinice a fost de 91,5%.

Cazurile de trombocitopenie severă cu hemoragii sunt însă rare.

Făcând în 2003 o analiză a incidenţei efectelor secundare şi adverse ale linezolidului la circa 80 de pacienţi care au primit 600 mg la 12 ore în infecţii cu bacterii Gram pozitive multi rezistente la chimioterapice, Birmingham şi colab. 2003 au găsit următoarea incidenţă a efectelor secundare:

- tulburări gastrointestinale 9,8% din cazuri;
- trombocitopenie 7,4% din cazuri;
- scăderea hematocritului şi a hemoglobinei 4,1% din cazuri;
- reacţii cutanate 4% din cazuri.

Dintre parametrii biochimici de laborator ce se modifică este de remarcat creşterea γ-glutamino-transpeptidazei în terapia cu linezolid.

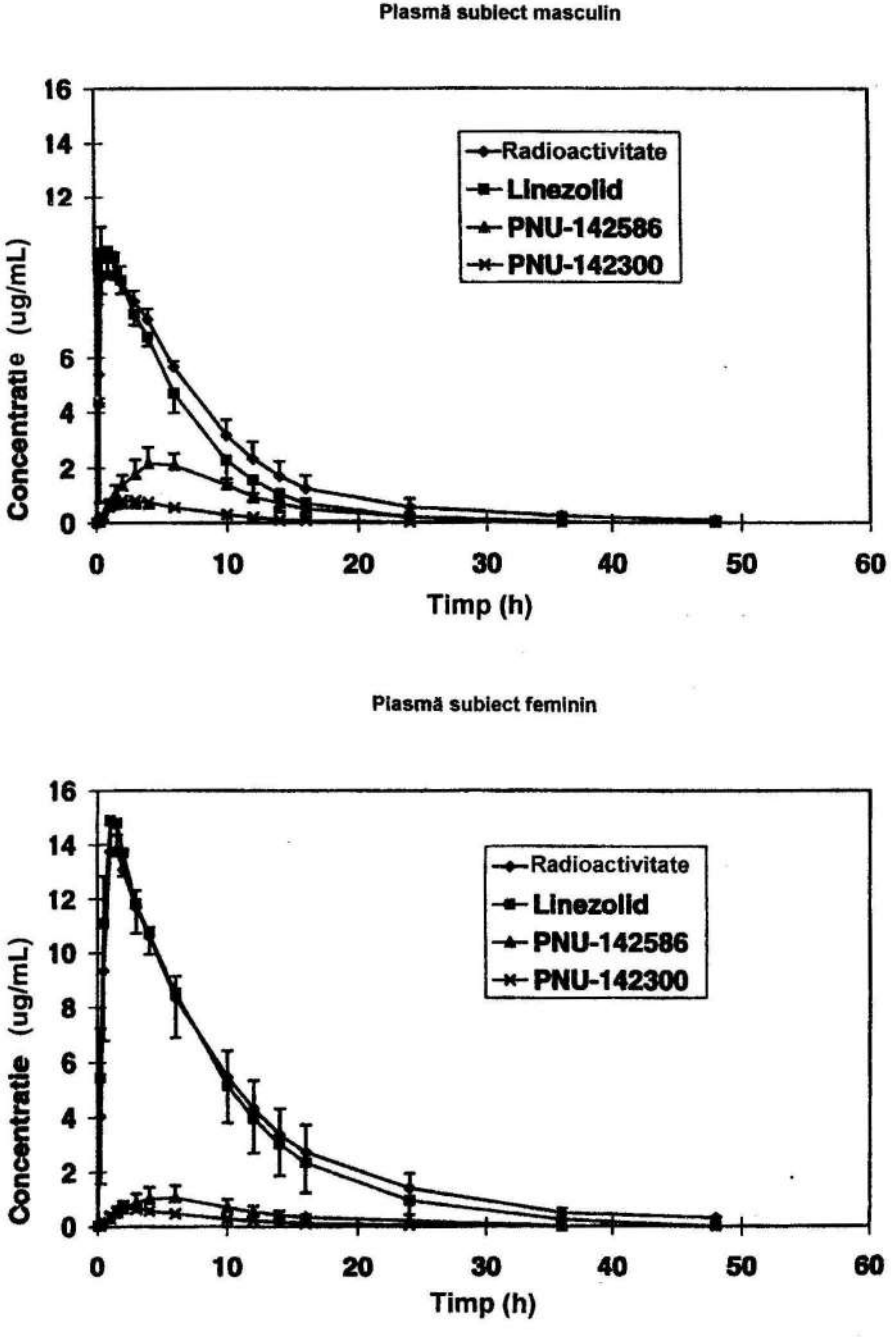


Fig. nr. 2. Evoluția concentrațiilor plasmatice ale linezolidului și a principalilor săi metaboliți PNU-142586 și PNU-142300 la subiecți de sex masculin și feminin (după Slatter și colab. 2001)

Stevens şi colab. 2000 au raportat la 3% dintre pacienţii adulţi care au primit linezolid 600 mg i.v. la 12 ore ,o moderată creştere a TA (probabil datorită inhibării MAO).

O limitare a utilizării linezolidului o constitue desigur şi preţul său.

În 2001 în SUA tratamentul pentru o zi depăşea preţul de 45 de dolari.

LINEZOLIDUL şi alte OXAZOLIDINONELE reprezintă **un important progres** în chimioterapia infecţiilor bacteriene şi considerăm că această clasă de medicamente se va extinde şi va fi tot mai mult utilizată.

Bibliografie

1. ALLEN G.P.,CHA R.,BYBAK M.J.,-*In vitro* activities of quinupristin-dalfopristin and cefepine,alone and in combination with various antimicrobials,against multidrug-resistant staphylococci and enterococci in an *in vitro* pharmacodynamic model, Antimicrob. Agents. Chemother. 2002, 46, p. 2606-2612
2. ANDES D. VAN OGTROP M.L., PENG J., CRARIG W.A.,-*In vivo* pharmacodynamics of a new oxazolidinone (Linezolid), Antimicrob. Agents. Chemother. 2002, 46, p. 3484-3489
3. ANTAL E.J., HENDERSHOT P.E., BATTS D.H., SHEN W.P., HOPKINS N.K., DONALDSON K.M., - Linezolid a novel oxazolidinne antibiotic:assessment of monoamine oxidase inhibition using pressor respinse to oral tyramine, J. Chim. Pharmacol. 2001, 41, p. 552-562.
4. ATTASSI K., HERSHBERGER E., ALAM R., ZERVOS M.J., - Thrombocytopenia associated with linezolid therapy, Chim. Infect. Dis. 2002, vol 1, p. 695-698
5. BAIN K.T., WITTBRODT E.T., - Linezolid for the Treatment of Resistant Gram-positive Cocci, Anal. Pharmacotherapy 2001, vol. 35, p. 566-575
6. BALLOW C.H., JONES R.N., BIEDENBACH D.J., A multicenter evaluation of linezolid antimicrobial activity in North America, Diagn. Microb. Infect. Dis. 2002, 43, p. 75-83
7. BAUGHAMAN R.P.,TAPSON V.,MC IVOR A.,-The diagnosis and treatment challenges in nosocomial pneumonia, Diag. Microbiol Infect. Dis 1999, 33, p. 131-139.
8. BELL J.M., TURMIDGE J.D., BALLOW C.H., JONES R.N., - Multicenter evaluation of the *in vitro* activity of linezolid in the Western Pacific, J. Antimicrob. Chemother, 2003, 51, p. 339-345
9. BEWERSOCK T.L., SALMON S.D., PARTIS E.S., - Mics of oxazolidinones for Rhodococcus equi strains isolated from humman and animals, Antimicrob.Agents.Chemother. 2000, 44, p. 1367-1369
10. BIRMINGHAM M.C., RAYNER C.R., MEAGHER A.K., FLAVIN S.M., BATTS D.H., SCHENTAG J.J. - Linezolid for the treatment of multidrug resistant Gram-positive infections experience from a compassinate-use program. Clin.Infect.Dis. 2003, 36, p. 159-168
11. BRICKNER S.J.,-Oxazolidinone antibacterial agents, *Chem.Pharm.Des.*, 1996, 2, p. 175-194
12. BROVN-ELIOT B.A., WARD S.C., CRIS C.J., MANN L.B., WILSON R.W., WALLACE R.J., - *In vivo* activities of linezolid against multiple Nocardia sppecies., Antimicrob.Agents. Chemother. 2001, 45, p. 1295-1297
13. CLEMENT D., MARKHAM A., - Linezolid, Drugs 2000, 59, p. 815-827
14. COMTE J.E., GOLDEN JA., KIPPS J., ZURLINDEN E., - Intrapulmonary pharmacokinetics of linezolid, Antimicrob.Agents.Chemother 2002, 46, p. 1475-1480
15. DAILEY C.F., DILETO-FANG C.L., BUCHANN L.V., ORAMAS-SHIREY M.P., BATTS D.H., FORD C.W., GIBSON J.K., - Efficacy of Linezolid in Treatment of Experimental Endocarditis Caused by Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus, Antimicrob. Agents. Chemother. 2001, 45, p. 2304-2308

16. FAGON J.Y., MAILLET J.M., NOVARA A.,- Hospital-acquired pneumonia methicillin resistance and intensive care unit admission, Am.J.Med., 1998, 104, p. 175-235
17. FUNG H.B., KIRSCHENBAUM H.L., OJOFEITIMI B.O., - Linezolid an oxazolidininne antimicrobial agent, Chim.Ther. 2001, 23, p. 356-391
18. GEORGE D.L., - Epidemiology of nosocomial pneumonia in intensive care unit patients, Clin.-Chest-Med. 1995, 16, p. 29-44
19. GERSON S.L., KAPLAN S.L., BRUSS J.B., LE.V., ARELLANO F.M., HACKIN B., KUTER D.J., - Hematologic Effects of Linezolid Summary of Chimical Experience, Antimicrob. Agents. Chemotherapy., 2002, vol. 46, p. 2723-2726
20. GREEN S.L., MADDOX J.C., HULTENBACH E.D., - Linezolid and reversible myelosupression, JAMA 2001, 285, p. 1291-1293
21. HAMEL J.C., STAPERT D., MOERMAN J.K., FORD C.W., - Linezolid, critical caracteristics, Infection 2000, 28, p. 60-64
22. HENWOOD C.J., LIVERMORE D.M., JOHNSON A.P., JAMES D., WARNER M., GARDINER A., - Susceptibility of Gram-positive cocci from 254 hospitals to antimicrobial agents including linezolid, J.Antimicrob.Chemother., 2000, 46, p. 931-940
23. JORGENSEN J.H., MC ELMEEL M.L., TRIPPY C.W., - *In vitro* activities of the oxazolidinone antibiotics 4-100592 and 100766,two novel fluorinated oxazolidinones, Antimicrob. Agents. Chemother., 1997, 47, p. 465-467
24. KAPLAN S.L., PATTERSON L., EDWARDS K.M, AZIMI P.H., BRADLEY J.S., BLUMER J.L., TAN T.Q, LOBECK F.G., ANDERSON D.C., - Linezolid for the treatment of community acquired pneumonia in hospitalized children, Ded.J.Infect.Dis. 2001, 20, p. 488-494
25. KRUEGER W.A., UMERTL K.F., - New treatment optim for Gram-positive infections in Critically ill patients-overview over linezolid, Anaesthesiol Intensivened Natfallmed Schmerzther 2002, 37, p. 199-204
26. MARCHESE A.,SCHITO G.C.,-The oxazolidinones as a family of antimicrobial agent, Chim.Microbiol.Infect. 2001, 7 suppl. 4, p. 66-74
27. National Nosocomial Infection surveillance (NNIS) System report,data from october 1986-april 1998, Public Heather Service, US Department of theaether and Humman Services 1998.
28. NORRBY R., - Linezolid a review of the first oxazolidinone, Expert.Opin.Pharmacotherapy 2001, 2, p. 293-302
29. PALADINO J.A., - Linezolid an oxazolidinone antomicrob agent, Am,J.Heaeth Syst. Pharm. 2002, 15, p. 2413-2425
30. PANLILIO A.L., CULVER D.H., GAYNES R.P., - Methicillin-resistant Staphylococcus aureus in US hospitals 1975-1991, Infect.Control.Hosp.Epidemiol, 1992, 13, p. 582-586
31. PERRY C.M., JARVIS B. - Linezolid a review of its use in the management of Serins gram-positive infections, Drugs 2001, 61, p. 525-551.
32. RUBINSTEIN E., CAMMARATA S.K., OLIPHANT T.H., WNNDERENK R.G.,- Linezolid (PNM-100766) versus vancomycin in the Treatment of Hospitalized Patients with Nosocomial Pneumonia:A Randomized,Double Blind Multicenter Sendy,Clin.Infect.Dis. 2001, 32, p. 402-412.
33. SAN PEDRO G.S., CAMMARATA S.K., OLIPHANT T.H., TODISCO T. - Scand. J. Infect. Dis. 2002, 34, p. 720-728
34. SHAIKH Z.H., PELEGUIN C.A., ERICSSON C.D., - Successful treatment of vancomycin-resistant Enterrococcus faecium meningitis with linezolid: case report and literature review, Seand.J.Infect.Dis. 2001, 33, p. 375-379
35. SHINABARGER D.L., MAROTTI K.R., MURRAY K.R., MURRAY R.W., LIN A.H., MELCHIOR E.P., - Mechanism of action of oxazolidinones:effects of linezolid and eperezolid on translation reations, Antimicrob.Agents.Chemother., 1997, 41, p. 2132-2136
36. SLATTER J.G., STALKER D.J., FEENSTRA K.L., WELSHMAN I.R., BRUSS J.B., SAMS J.P., JOHNSON M.G., SANDERS P.E., HAUER M.J., FAGERMESS P.E., STRYD R.P., FENG G.W., SHOBE E.M., - Pharmacokinetics, Metabolism and Excretion of Linezolid followny an oral Dose of [^{14}C] Linezolid to thaethy Humman Subjects, Drug Metab.Disp. 2001,

29, p. 1136-1145
37. STEVENS D.L., SMITH L.G., BRUSS J.B., MC CONNELL-MARTIN M.A., DUVAL S.E., TODD W.M., HAFKIN B., - Randomized comparison of linezolid (PNU-100766)versus oxacillin-Dicloxacillin for Treatment of Complicated Skin and Soft Tissue Infections, Antimicrob.Agents.Chemother., 2000, vol. 44, p. 3408-3413
38. WALLACE J.R., BROWN-ELLIOTT B.A., WARD S., CRIST C.J., MANN L.B., WILSON R.W., - Activities of Linezolid against Rapidly Growing Mycobacteria, Antimicrob. Agents. Chemother., 2001, vol. 45, p. 764-767
39. WALLACE R.J., COOK J.L., GLASSROTH J., GRIFFITS D.E., OLIVEER K.N., GORDIN F., - American Thoracic Society Statcment diagnosis and treatment of disease caused by nontuberculosis mycobacteria, Am.Respir.Cut.Care Med., 1997, 156, p. S1-S25
40. ZHANG Y., XU Q.A., TRISSEL L.A., WILLIAMS K.Y., - Compatibility and stability of linezolid injection mixed with aztreonam piperacillin sodium, J.Am.Pharm.Assoc. 2000, 40, p. 520-524.

SUPOZITOARE VAGINALE CU CLOTRIMAZOL

Ileana Cojocaru, Iolanda Elena Blidaru, Daniela-Cristina Dimitriu, Mariana Voitcu, Laura Palade
Universitatea de Medicină şi Farmacie "Gr.T. Popa", Iaşi

Abstract
Clotrimazole is an antimycotical substance having an imidazole structure, used topically in solutions, sprays, ointments, powders, vaginal tablets.
Objective of study was the realization of vaginal suppositoria with clotrimazole that can optimize the active substance release from the dosage form, the problem being observed with the vaginal tablets.
We realized two formulations of vaginal suppositories suspension type, with clotrimazole, named T and AC. In order to improve the delivery of the active substance, hardly water soluble, as clotrimazole, we used in formulation a surfactant emulsifier (T) and base preemulsioned (AC) to increase the HLB of the excipient, meaning a better display upon the vaginal mucosa.
The vaginal suppositories formulas A and AC, prepared by melting and moulding, have an homogenous aspect, a white-yellow colour and do not present particle agglomeration. They are conformely with the physico-chemical quality conditions for vaginal suppositories (mass uniformity, melting properties, quantitative determination), the parameters being within the limits established by the Xth Romanian Pharmacopeea, immediately after preparation and during conservation.
The clinical and laboratory diagnostic and the efficience of the preparations was searched on 15 cases of candidosis, 15 cases of trichomoniasis, associated with potential pathogenetic flora, performed at the Medical Surgery Clinic of Family Planning of the "Cuza Vodă" Hospital Iaşi. The results evidentiated a complete healing after the 10 days of treatment.
The obtained results for the determined parameters and the clinical evolution of the treated cases, evidentiated the AC formula as being the best.

Introducere

Infecţiile micotice vaginale au devenit tot mai frecvente. Una din cauze o reprezintă creşterea factorilor favorizanţi datorită folosirii pe scară largă a anticoncepţionalelor hormonale, a antibioticelor antibacteriene, a corticosteroizilor precum şi a agenţilor imunosupresori şi a radioterapiei. Toţi aceşti factori favorizează apariţia micozelor prin dezechilibrarea ecosistemului microbian, dar şi prin slăbirea capacităţii de apărare a organismului.

Antifungicele folosite în micoze ale pielii şi mucoaselor fac parte din clase cu diferite structuri chimice (Tabelul I) (xxx Remington's Pharmaceutical Sciences, 1990).

Clotrimazolul este un antimicotic derivat de imidazol: 1H-imidazol, 1[(2-chlorophenyl) diphenylmethyl] (Figura 1).

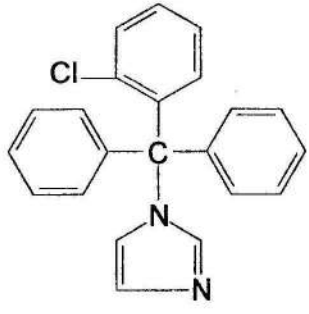


Fig. 1: 1 H-imidazol, 1-[(2 clorfenil) difenilmetil]

Pulbere microcristalină albă sau alb gălbuie, greu solubilă în apă, solubilă în alcool sau cloroform; se dizolvă în soluţii de acizi diluaţi. Antifungic cu spectru larg, inhibă creşterea dermatofiţilor, Candidei şi altor levuri. Este indicat în candidoză cu localizare cutanată, vaginală şi orofaringiană şi în trichomoniaza vaginală. Acţionează prin modificarea permeabilităţii membranelor fungice (V. Stroiescu, 1998).

Utilizarea per orală este limitată datorită efectelor toxice la nivel SNC. Se foloseşte topic sub formă de cremă sau soluţie 1% de 2 ori/zi, intravaginal 5g crema 1%, tablete vaginale de 100mg, 7 zile consecutiv sau 2 tablete de 100mg, 3 zile preferabil, în timpul nopţii (xxx Memomed, 2002), oral se folosesc comprimate orale (trochişti) de 10 mg care se dizolvă încet în gură, tratamentul durând cel puţin 14 zile (xxx Remington's Pharmaceutical Sciences, 1990).

Scopul lucrării

Realizarea unor supozitoare vaginale cu clotrimazol care, prin formularea lor să optimizeze cedarea substanţei active din forma farmaceutică, inconvenient constatat clinic la comprimatele vaginale.

Tabel I - Antifungice folosite în micoze ale pielei şi mucoaselor

Substanţa medicamentoasă	Preparat	Calea de administrare	INDICAŢII	
			Dermatofiţi	Candida
Alilamine	NAFTIFIN	Topic		x
Naftifin				
Derivaţi imidazolici				
Butaconazol	FEMSTAT	Intravaginal	x	x
Clotrimazol	CANESTEN	Topic, intravaginal	x	x
	CLOTRIMAZOL	Topic, oral	x	x
	LOTROMIN			
	MYCELEX			
	SPECTAZOL	Topic	x	x
Econazol		oral, topic	x	x
Ketoconazol	NIZORAL	oral, topic	x	x
Miconazol	MONISTAT	topic, intravaginal	x	x
Oxiconazol	OXISTAT	topic	x	x
Sulconazol	EXELDERM	topic	x	
Triazoli				
Terconazol	TERZOL	intravaginal		x
Antibiotice polienice				
	FUNGIZONE			x
Amfotericina B	MYCOSTATIN	oral, intravaginal		x
Nistatin	NILSTAT	topic		
	OUSTAIN			
Varia				
Ciclopirox	LOPROX	topic	x	x
Clioquinol	VIOFORM	topic	x	x
Griseofulvin	VARIATE PREP.	oral	x	x
Haloprogin	HALOTEX	topic	x	x
Pyrition zinc	VARIATE PREP.	topic	x	x
Sulfură de seleniu	EXSEL, SELSUN	topic	x	
Tolnaftat	AFTATE,	topic	x	
	ZEASORB-AF			
Acid undecilenic	DESENEX	topic	x	

Material şi metodă

S-au formulat şi realizat două preparate - supozitoare vaginale tip suspensie cu clotrimazol, notate convenţional T, AC. Aprecierea calităţii supozitoarelor vaginale cu clotrimazol s-a făcut prin urmărirea parametrilor organoleptici (aspect, formă, culoare, dimensiune) şi fizico-chimici (uniformitatea masei, comportamentul la topire, determinarea conţinutului în substanţă activă). Diagnosticul clinic şi de laborator şi eficacitatea terapeutică a preparatelor a fost urmărită la cabinetul de planning familial al Spitalului Clinic Cuza-Vodă, Iaşi, pe 15 cazuri de candidoză şi 15 cazuri de vaginită cu Trichomonas, asociate cu floră potenţial patogenă.

Testarea clinică a supozitoarelor a fost realizată parcurgând următoarele etape:

- stabilirea diagnosticului clinic prin examen local, cu cuantificarea intensității simptomelor reprezentate de: prurit, leucoree, eritem, edem, dispareunie, inconstant disurie, cu notarea arbitrară pe scara (0-1-2), unde: 0 – absent, 1 – moderat prezent, foarte intens prezent.
- confirmarea agentului etiologic patogen prin examen bacteriologic al conținutului vaginal și endo-cervical (cultură, antibiogramă, fungigramă); în studiu fiind incluse numai pacientele care aveau flora sensibilă la clotrimazol.
- urmărirea evoluției simptomatologiei clinice în cursul tratamentului stabilit, zilnic pentru primele 3 zile, iar ulterior la 2 zile.

Rezultate și discuții

La formularea supozitoarelor vaginale tip suspensie cu clotrimazol s-a folosit ca excipient unt de cacao și acid stearic, cremophor și polisorbat 80 aditivi care cresc valoarea HLB-ului excipientului, determinând o mai bună umectare în faza apoasă. Formulările de supozitoare vaginale sunt prezentate în Tabelul II.

Tabel II – Formulări de supozitoare vaginale cu clotrimazol

Formulare / Compoziție	T	AC
	grame	
Clotrimazol	0,100	0,100
Polisorbat 80	0,050	-
Acid stearic	-	0,150
Cremophor O	-	0,200
Unt de cacao q, s ad	4,000	4,000

Pentru a îmbunătăți procesul de eliberare și difuziune a clotrimazolului, substanță greu solubilă în apă, am folosit un emulgator tensioactiv constituit dintr-un amestec de monoesteri ai acidului oleic cu sorbitolul sau sorbitan copolimerizați cu molecule de oxid de etilen (formula T) și o bază de supozitor preemulsionată formată dintr-o fază lipofilă - unt de cacao, un surfactant – cremophor și un cosurfactant – acidul stearic (formula AC).

Prepararea supozitoarelor vaginale cu clotrimazol s-a făcut prin topire și turnare în forme. Pentru a afla cantitatea de excipient necesară am calculat factorul de dislocuire (f), folosind tehnici indicate în literatură (Eliza Gafițanu, 2000). Factorul de dislocuire al clotrimazolului este 1,1.

Supozitoarele vaginale obținute se condiționează individual, prin învelire în hârtie cerată, după care se introduc în cutii de aminoplast. Se păstrează la loc uscat, ferit de lumină la cel mult 25°C.

Proprietățile organoleptice (aspect, formă, culoare, miros) pot oferi indicii asupra modificărilor fizico-chimice survenite pe parcursul conservării; de aceea controlul lor este foarte important.

Supozitoarele vaginale obținute au aspect uniform, formă sferică, culoare alb-gălbuie și miros caracteristic de unt de cacao. Nu prezintă aglomerări de

particule sau cristale la examinare cu lupa (4,5 x). Aceste caracteristici se menţin pe durata conservării de 30 zile (xxx Farmacopeea Română, 1993).

Uniformitatea masei s-a determinat pe 20 supozitoare vaginale (xxx FR X – Supliment, 2001). Rezultatele obţinute le prezentăm în Tabelul III.

Tabel III – Uniformitatea masei supozitoarelor vaginale cu clotrimazol

Formula conf. tabelului II	Masa totală M_t (g)	Masă medie $\overline{M}$ (g)	Abatere admisă FR X Supliment 2001 5%	Variaţie $\overline{M} \pm 7,5\%$
T	80,42	4,021	0,201	4,222-3,820
AC	80,30	4,015	0,200	4,215-3,815

Comportamentul la topire s-a determinat folosind tehnica de lucru prevăzută de Farmacopeea Română ed. a X-a. Rezultatele obţinute le prezentăm în Tabelul IV.

Tabel IV – Comportamentul la topire al supozitoarelor cu clotrimazol

Formulă conform tabelului II	Timpul (minute)			
	după preparare	7 zile	21 zile	1 lună
T	10	11	11	15
AC	6	6	8	10

Timpul de topire se înscrie în limitele admise de FR X (30 min) atât la preparare, cât şi după 30 de zile de conservare.

Determinarea cantitativă a clotrimazolului s-a făcut în mediu neapos, în prezenţă de galben de metanil în dioxan, titrând cu acid percloric în dioxan până la coloraţie roşu violacee.

1 ml $HClO_4$ 0,1 mol/l în dioxan corespunde la 0,03448 g $C_{22}H_{17}ClN_2$

$$g/\text{sup.} = \frac{v \cdot f \cdot 0,03448 \overline{M}}{a}$$

v = ml $HClO_4$ 0,1 mol/l utilizat la titrare
f = factorul $HClO_4$ 0,1 mol/l
$\overline{M}$ = greutatea medie
a = cantitatea luată în lucru

Rezultatele obţinute sunt prezentate în tabelul V.

Tabel V – Determinarea cantitativă a clotrimazolului

Formula conf. tabel II	V_{HClO_4} [ml]	F_{HClO_4}	$\overline{M}$ (g)	a(g)	Clotrimazol g/sup.	Abatere admisă ±7,5%
T	3,2	0,9512	4,021	4,161	0,10142	±0,0075
AC	3,1	0,9512	4,015	3,979	0,10259	±0,0075

Rezultatele obţinute sunt corespunzătoare, înscriindu-se în limitele admise de normele în vigoare (Farmacopeea Română, 1993).

Diagnosticul clinic şi de laborator şi eficacitatea preparatelor urmărită pe 15 cazuri de candidoză şi 15 cazuri de vaginită cu Trichomonas asociate cu floră potenţial patogenă a evidenţiat : pentru lotul de paciente cu vaginită candidozică media scorului stabilit este 8, iar la cele cu vaginită cu Trichomonas media scorului este 9 (Tabel VI).

Tabel VI

Simptome	*Vaginită candidozică*	*Vaginită cu Trichomonas*
Prurit	2	1
Leucoree	2	2
Eritem	2	1
Edem	1	2
Dispareunie	1	2
Disurie	0	1
Scor	8	9

Ameliorarea simptomatologiei clinice s-a produs mai rapid la utilizatoarele de supozitoare vaginale cu formula AC (bază preemulsionată); la 70% dintre paciente, remisiunea fiind completă după primele 3 zile de tratament, faţă de cele la care s-a administrat formula cu emulgatori tensioactivi şi remisiunea s-a înregistrat doar la 50% dintre paciente, după acelaşi interval de timp. Vindecarea completă confirmată prin examen clinic s-a produs pentru ambele tipuri de preparate la sfârşitul curei de 10 zile de tratament, exceptând 10% din cazuri la care remisiunea a fost incompletă.

Concluzii

Au fost formulate şi preparate 2 formule de supozitoare vaginale tip suspensie cu clotrimazol.

Pentru a îmbunătăţi procesul de eliberare şi difuziune a clotrimazolului s-a folosit un emulgator tensioactiv la o bază clasică şi o bază de supozitor preemulsionată.

Aprecierea calităţii supozitoarelor vaginale cu clotrimazol s-a făcut prin urmărirea parametrilor organoleptici, fizico-chimici şi terapeutici.

Rezultatele obţinute la parametrii determinaţi, cât şi evoluţia clinică au evidenţiat formula AC cu bază preemulsionată.

Bibliografie

1. E. GAFIŢANU – Forme farmaceutice – sisteme disperse eterogene, vol. I, Ed. Cermi, 2000, 291-333.
2. STROIESCU V. – Bazele farmacologice ale practicii medicale, ed. IV, Ed. Medicală, Bucureşti, 1998, 654-667.
3. xxx Farmacopeea Română ed. A X-a, Ed. Medicală, Bucureşti, 1993, 889-890.
4. xxx FR ed. X, Supliment 2001, Ed. Medicală 2002, 41-49.
5. xxx Memomed, Ed. Minesan, Bucureşti, 2002, 306, 345, 364.
6. xxx Remington's Pharmaceutical Sciences, vol. II, Eighteen Edition, Mack Publishing Company, 1990, 1327-1331.

III. DATE REFERITOARE LA FARMACOLOGIA ŞI MICROBIOLOGIA MEDICAŢIEI ANTIBACTERIENE ŞI ANTIFUNGICE

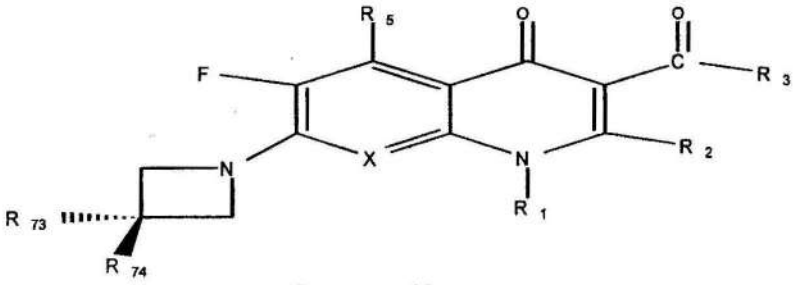
APLICAREA METODEI MTD ŞI A MODELĂRII MOLECULARE PENTRU STUDIUL ACTIVITĂŢII ANTIBACTERIENE ÎN SERIA UNOR 7-AZETIDINILCHINOLONE

Alina Heghes[1], Corima Seiman[2], Cristina Dehelean[1], Doina Ghiran[3], D. Ciubotariu[1]
[1] *Universitatea de Medicină şi Farmacie „Victor Babeş", Facultatea de Farmacie, Timişoara*
[2] *Facultatea de chimie – Biologie – Geografie, Departamentul de Chimie Oraganică, Timişoara*
[3] *Universitatea de Medicină şi Farmacie „Iuliu Haţieganu", Facultatea de Farmacie, Cluj-Napoca*

Introducere

Aplicarea metodelor de chimie computerizate de prospectare a unor molecule bioactive anume tehnicile chemometrice, utilizate în mod obişnuit în QSAR, şi a metodelor de modelare moleculară, constituie actualmente fundamentul proiectării moderne a substanţelor bioactive – liganzii L_i –(drug design) deoarece pe această bază poate fi înţeleasă comportarea moleculelor L_i existente şi prevăzute, înaintea sintezei şi testării, activitatea biologică a unor structuri moleculare noi.

În această lucrare vom prezenta rezultatele obţinute asupra unui studiu QSAR pentru o serie de 56 de derivaţi ai acizilor chinolon – 3 – carboxilici şi 1,8 – naftiridin – 3 – carboxilici. Compuşii studiaţi prezintă următoarea formulă generală:



Structura (I)

X = CH, N, CF, CCl
R_1 = c-Pr; Et; t-Bu; 2,4-F_2- C_6H_5
R_2 = H, SNH
R_3 = OH
R_5 = H, NH_2
R_{73} = vezi tabelul 1
R_{74} = H, CH_3

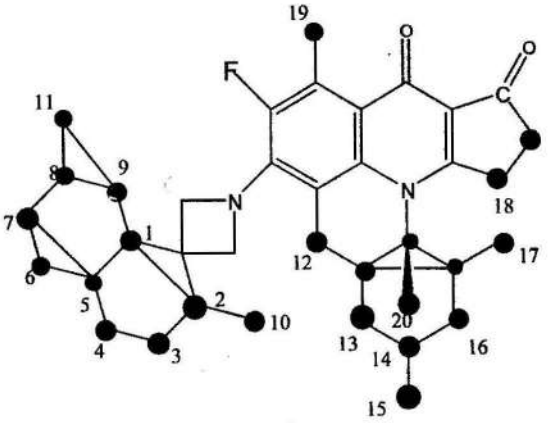
Aceşti compuşi au fost sintetizaţi şi caracterizaţi din punct de vedere al activităţii biologice, din dorinţa de a dezvolta a nouă clasă de chinolone cu acţiune antibacteriană, anume 7-azetidinilchinilonele. Acestea conţin la atomul de C-7 o grupare azetidinil substituită în locul grupărilor existente în mod obişnuit. Studiile efectuate asupra acestor substanţe au relevat semnificaţia deosebită a posibilităţii înlocuirii substituentului din poziţia a 7-a, prezent în structura acizilor chinolon carboxilici, deosebit de activi, dintre care se recrutează reprezentanţii generaţiei a III-a, cu alte grupări. Activitatea antibacteriană a fost evaluată *in vitro* comparativ cu ciprofloxacinul faţă de tulpini de germeni gram-negativi şi tulpini de germeni gram-pozitivi (Dănilă şi colab. 2001; Frigola şi colab. 1993).

Metoda MTD

Cu ajutorul metodelor de modelare moleculară au fost optimizate geometriile celor 56 de liganzi. Aceasta a permis evaluarea unor parametrii mecanic-cuantici şi van der Waals (Ciubotariu şi colab. 1990; SIMON şi colab. 1984). Din păcate, amploarea calculelor ne-a permis ca în această lucrare să ne limităm la prezentarea metodei MTD[3] şi a rezultatelor aplicării ei asupra acestei noi clase de chinolone cu activitate antibacteriană.

Metoda MTD (Minimal Topological Difference) a fost introdusă cu scopul de a obţine o serie de informaţii asupra structurii (topologice, sterice, hidrofobe, etc.) receptorului biologic R. Acest lucru se realizează printr-o analiză QSAR (Quantitative Structure – Activity Relationship) a unei serii de substanţe bioactive – liganzii L_I - pentru care se cunosc activităţile biologice (Ciubotariu şicolab. 1990; Simon şi colab. 1984). Metoda se bazează pe conceptul de hipermoleculă

(H), introdus pentru prima oară în domeniul proiectării medicamentelor. Aceasta este, de fapt, o rețea topologică care se obține prin suprapunerea aproximativă, atom cu atom, a tuturor moleculelor L_i (i=1,N; N=56) din seria studiată de acizi 7-azetidinil-4-chinolon-3-carboxilici (vezi (I) şi tabelul 1). În acest proces sunt neglijate diferențele mici, care pot să apară între unghiurile de valență sau distanțele interatomice dintre cei 56 de liganzi, urmărindu-se o suprapunure maximă, adică o diferență topologică (respectiv sterică) minimă.Hipermolecula H (II):



Hipermolecula H (II)

Hipermolecula H (II) obținută, compusă din m=20 de noduri, este o imagine ipotetică a macromoleculei biologice (a receptorului biologic) R cu care interacționează cei 56 de liganzi chinolonici. Natura nodurilor este specificată cu ajutorul descriptorului tenar ε_j, j=1,m (m=20), care poate lua valorile ε_j=-1 (nodurile sunt situate în cavitatea receptorului, ocuparea lor de către L_i determinând o mărire a activității biologice a lui L_i), ε_j=+1 (nodurile fiind situate în pereții lui R, cu efect defavorabil asupra activității lui L_i) şi ε_j=0 (nodurile irelevante din punct de vedere steric) (Ciubotariu şi colab. 1990; SIMON şi colab. 1984).

Structura celor 56 de liganzi L_i este descrisă cu ajutorul vectorului topologic $X=\{x_{ij}\}$, ale cărui elemente x_{ij} pot lua doar două valori: x_{ij}=1, dacă nodul j din H (vezi hipermolecula) este ocupat de L_i, valoarea x_{ij}=0 (dacă nodul j din H nu este ocupat). Dacă o moleculă L_i prezintă mai multe conformații de energie joasă, atunci vectorul $X=\{x_{ij}\}$va descrie ocupanța nodului j din H de către L_i aflată în conformația k pentru x_{ijk}=1 sau neocupanța prin x_{ijk}=0. Acest vector, împreună cu valorile activităților biologice sunt prezentate în tabelul 1.

Tabelul nr. 1. Structura liganzilor şi activităţile lor biologice, A_i, i=1,56.

Nr.crt.	A	R_1	R_2	R_3	R_5	R_{73}	R_{74}	A_i	j, $x_{ij}=1$, $X=\{x_{ij}\}$
1.	CCl	2,4-F_2-C_6	H	OH	H	NH_2	H	1,8239	1,12-17
2.	CCl	2,4-F_2-C_6	H	OH	H	NHMe	H	1,8239	1,5,12-17
3.	CF	2,4-F_2-C_6	H	OH	NH_2	NH_2	H	1,5229	1,12-17,19
4.	CH	c-Pr	H	OH	H	H	H	1,2218	0
5.	CF	c-Pr	H	OH	H	OH	H	1,2218	1,12
6.	CF	c-Pr	H	OH	H	OMs	H	1,2218	1,4,5,12
7.	CF	c-Pr	H	OH	NH_2	OH	H	1,2218	1,12,19
8.	CF	c-Pr	H	OH	NH_2	NH_2	H	1,2218	1,12,19
9.	CCl	c-Pr	H	OH	H	NHMe	H	1,2218	1,5,12
10.	CH	c-Pr	-S	NH-	H	NH_2	H	1,2218	1,18
11.	CH	c-Pr	-S	NH-	H	NHMe	H	1,2218	1,4,5,18
12.	CH	c-Pr	-S	NH-	H	NMe_2	H	1,2218	1,5,9,18
13.	CH	c-Pr	-S	NH-	H	NHMe	Me	1,2218	1,2,5,18
14.	CH	c-Pr	H	OH	H	OH	H	0,9208	1
15.	CH	c-Pr	H	OH	H	OH	Me	0,9208	1,2
16.	CH	c-Pr	H	OH	H	OH	Et	0,9208	1,2,10
17.	CH	c-Pr	H	OH	H	NMe_2	H	0,9208	1,5,9
18.	CF	c-Pr	H	OH	H	NH_2	H	0,9208	1,12
19.	CF	c-Pr	H	OH	H	$N(CH_2)_4$	H	0,9208	1,5,7,8,9,12
20.	CF	c-Pr	H	OH	H	CH_2NH_2	H	0,9208	1,5,12
21.	CF	c-Pr	H	OH	H	Oac	H	0,9208	1,4,5,6,12
22.	CCl	c-Pr	H	OH	H	NH_2	H	0,9208	1,12
23.	CH	c-Pr	-S	NH-	H	NHMe	H	0,9208	1,5,18
24.	N	t-Bu	H	OH	H	NHMe	Me	0,9208	1,2,5,20
25.	CH	c-Pr	H	OH	H	NH_2	H	0,6201	1
26.	CH	c-Pr	H	OH	H	NHMe	H	0,6201	1,5
27.	CH	c-Pr	H	OH	H	NHEt	H	0,6201	1,5,6
28.	CH	c-Pr	H	OH	H	NHMe	Me	0,6201	1,2,5
29.	CH	c-Pr	H	OH	H	NMe_2	Me	0,6201	1,2,5,9
30.	CH	c-Pr	H	OH	H	CH_2NH_2	Me	0,6201	1,2,5
31.	CH	c-Pr	H	OH	H	CH_2NHEt	Me	0,6201	1,2,3,4,5
32.	CH	c-Pr	H	OH	H	N(Me) CH_2COMe	Me	0,6201	1,2,5,7,8,9,11
33.	CF	c-Pr	H	OH	H	H	H	0,6201	12
34.	CF	c-Pr	H	OH	H	OH	Me	0,6201	1,2,12
35.	CF	c-Pr	H	OH	H	NHMe	H	0,6201	1,5,12
36.	CF	c-Pr	H	OH	H	NHEt	H	0,6201	1,5,6,12
37.	CF	c-Pr	H	OH	H	NMe_2	H	0,6201	1,5,9,12
38.	CF	c-Pr	H	OH	H	NMe_2	Me	0,6201	1,2,5,9,12

39.	CF	c-Pr	H	OH	H	$N(CH)_4$	Me	0,6201	1,2,5,7,8,9,12
40.	CF	c-Pr	H	OH	H	CH_2NHEt	Me	0,6201	1,2,5,6,7,12
41.	CF	c-Pr	H	OH	H	$CONH_2$	H	0,6201	1,5,9,12
42.	N	c-Pr	H	OH	H	NHMe	H	0,6201	1,5
43.	N	c-Pr	H	OH	H	NMe_2	H	0,6201	1,5,9
44.	N	c-Pr	H	OH	H	NHMe	Me	0,6201	1,2,5
45.	N	2,4-F_2-C_6	H	OH	H	NH_2	H	0,6201	1,12-16
46.	CH	t-Bu	H	OH	H	NHMe	Me	0,6201	1,2,5,20
47.	CH	c-Pr	H	OH	H	a	H	0,6201	0
48.	CH	c-Pr	H	OH	H	CH_2NH_2	H	0,301	1,5
49.	CH	c-Pr	H	OH	H	CH_2NHEt	H	0,301	1,3,4,5
50.	CF	c-Pr	H	OH	H	OH	Et	0,301	1,2,3,12
51.	CF	c-Pr	H	OH	H	NHMe	Me	0,301	1,2,5,12
52.	CF	c-Pr	H	OH	H	CH_2NHEt	H	0,301	1,5,6,7,12
53.	CF	Et	H	OH	NH_2	NH_2	H	0,301	1,12,19
54.	CF	c-Pr	H	OH	H	CH_2NH_2	Me	0	1,2,5,12
55.	CF	c-Pr	H	OH	H	CN	H	0	1,5,12
56.	CF	c-Pr	H	OH	H	CO_2H	H	-	1,5,9,12

* A_i = log (1/MIC), MIC= concentrația minimă inhibitorie pentru culturi de Staphylococcus aureus, A din structura (I), Ms=methilsulfonil, a=piperazinil, Ac=acetil, Et=etil,Me=metil,t-Bu=tert-butil,c-Pr=ciclo-propil, 2,4-F_2-C_6=2,4-difluorfenil, $N(CH)_4$ = 1-pirolil, $N(CH_2)_4$ = 1-pirolidinil

Activitățile antibacteriene măsurate experimental, luate aici în considerare, reprezintă concentrațiile inhibitorii minime, în μg/ml, MIC, determinate *in vitro*. Activitatea biologică utilizată în cadrul metodei MTD este A = log (1/MIC).

Valorile MTD_i corespunzătoare liganzilor L_i pentru o anumită cartă a receptorului $S=\{\varepsilon_j\}$, j=1,m sunt date de relația (Ciubotariu şicolab,1990;SIMON şi colab. 1984):

$$MTD_i = s + \sum_{j=1}^{m} \varepsilon_j x_{ijk} \qquad . (1)$$

În care s reprezintă numărul de noduri cavitate (ε_j =-1) din H pentru o anumită cartă a receptorului S_K, iar k>1 pentru cazul multifuncțional. Dacă L_i prezintă mai multe conformații k de joasă energie, atunci el o va adopta pe aceea care determină cea mai mică nepotrivire sterică în raport cu receptorul, adică:

$$MTD_i = \min_k \left\{ s + \sum_{j=1}^{m} \varepsilon_j x_{ijk} \right\} \qquad (2)$$

Procedura de optimizare, validată statistic, permite obținerea unei imagini ipotetice a receptorului biologic R, pe baza variantei activităților biologice A_i, utilizând drept parametru structural valorile MTD_i. Ecuația corelațională care stă la baza acestui algoritm de optimizare este (Ciubotariu şi colab. 1990; Simon şi colab. 1984):

$$A_i = \alpha - \beta \cdot MTD_i \qquad (3)$$

Criteriul de optimizare ales (funcţia obiectiv) este coeficientul de corelare A vs. MTD, r (Ciubotariu şi colab. 1990; SIMON şi colab. 1984). Etapele acestui proces algoritmic sunt sintetizate astfel:

(i) Plecând de la o cartă de start $S^0 = \{\varepsilon_j^0\}$, j=1,m; m=32, (vezi mai jos,) sunt evaluate valorile MTD_i conform ecuaţiilor (1) şi (2) şi parametrii α şi β din (3), fiind estimat coeficientul de corelare, r_0.

(ii) În S^0 fiecare nod ε_j este modificat, sunt calculate noile valori MTD corespunzătoare fiecărei modificări, determinate ecuaţiile (3) şi estimaţi coeficienţii de corelare aferenţi. Astfel, se obţin 2m carte S, fiecăreia corespunzându-i câte un coeficient de corelare, r.

(iii) Se determină coeficientul maxim de corelare, r_{max}, dintre cei 2m coeficienţi şi se trece din nou la pasul (ii).

(iv) Procesul de optimizare se consideră terminat atunci când este îndeplinită condiţia

$$r_{k+1} < r_k$$

r_{k+1} fiind coeficientul de corelare obţinut la pasul (k+1). Carta $S_k = S^*$ este considerată drept carta optimizată a receptorului, iar ecuaţia corespunzătoare ei, (3), este relaţia QSAR ce urmează a fi interpretată sau utilizată în sens predictiv.

Astfel, în cazul nostru, vom porni de la o cartă iniţială a receptorului S^0, definită pe baza hipermoleculei **H** (II) conform relaţiei (4):

$$S^0 = \begin{array}{l} j(\varepsilon_j=-1):\ 1,12,13\text{-}17 \\ j(\varepsilon_j=0):\ \qquad (r=0,390) \\ j(\varepsilon_j=+1):2\text{-}11,18,19,20 \end{array} \qquad (4)$$

Algoritmul de optimizare constă în plasarea fiecărui nod din hipermoleculă în cavitate (ε_j=-1), perete (ε_j=+1) sau zona steric nerelevantă (ε_j=0), astfel încât, prin evaluarea diferentelor sterice minime MTD_i, variaţia datelor experimentale să fie cât mai bine corelată cu acestea.

În urma acestui proces s-a obţinut următoarea cartă optimizată a receptorului R, notată S* (5):

$$S^* = \begin{array}{l} j(\varepsilon_j=-1):\ 4,8,\ 14\text{-}20 \\ j(\varepsilon_j=0):\ 1,19,6,7,9,10 \\ j(\varepsilon_j=+1):11\text{-}13,2,3,5 \end{array} \qquad (5)$$

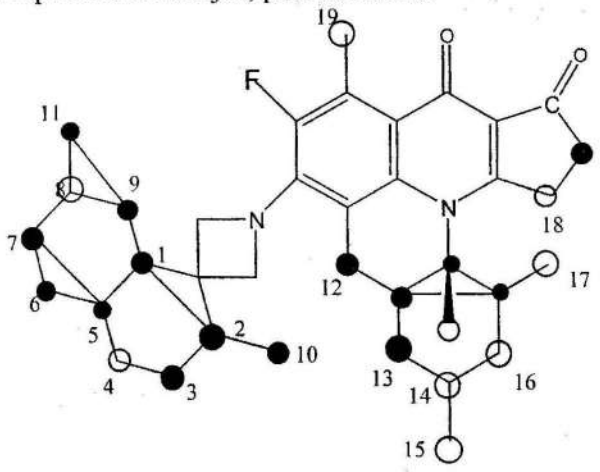
$$(r=0,860)$$

$$A_i = 2,396 - 1,354 \bullet MTD_i$$

Ocuparea nodurilor 4, 8, 14-20 (aflate în situsul receptorului) de către o moleculă ligand L_i are un efect favorabil asupra activităţii biologice antibacteriene, în timp ce ocuparea nodurilor 2,3,5,11-13 are un efect defavorabil, micşorând bioactivitatea.

În acest caz activitățile biologice luate în considerare sunt reprezentate de activitățile antibacteriene măsurate experimental.[6] Ele reprezintă concentrațiile inhibitorii minime, MIC, în μg/ml, determinate *in vitro* pe culturi de germeni gram-negativi, G-. De fapt, activitatea biologică luată în considerare în cadrul metodei MTD este A = 1 og (1/MIC). În acest fel, unei doze MIC mici îi va corespunde un răspuns biologic (de inhibare) mare.

Carta optimizată a receptorului S*, corespunzătoare hipermoleculei H (III) este reprezentată mai jos, prin structura :



Carta S* optimizată

Concluzii:

- Există un paralelism între modul de acțiune al compușilor asupra activității biologice din clasa 7-azetidinilchinolonelor, în limita erorilor experimentale, presupunând că toate condițiile de determinare a valorilor experimentale sunt identice.
- Hidrofobicitatea la nivelul de interacțiune receptor-efector nu prezintă importanță, deoarece asupra datelor *in vitro* nu intervin fenomene de transport.
- Metoda MTD are o importanță deosebită în vederea investigării spațiului receptorial, evidențiind, de asemenea, corelări valoroase între activitatea biologică a unor compuși de interes practic cu diferiți parametrii.
- Pentru o activitate antibacteriană semnificativă, substituentul R_1 legat de atomul de azot N-1 trebuie să fie de mărimea ciclopropilului sau a 2,4 difluorfenil (valorile refracției molare fiind în domeniul 13-20, respectiv al volumelor van der Waals în domeniul 60-77Å^3).
- Dacă X este = C (Cl,F)–, efectul structural va fi, de asemenea, favorabil pentru acțiunea 7 - azetidinilchinolonelor.
- În general, R_5 = H. Absența substituenților la atomul C-5 va avea un efect favorabil asupra activității antimicrobiene.

- Deşi substituenţii notaţi R_{73} prezintă o variaţie structurală mai mare, acest studiu QSAR preliminar efectuat cu ajutorul metodei MTD sugerează faptul că acţiunea creşte în ordinea: $CH_2NH_2 \sim CH_2NHEt \sim NMe_2 < NHMe = NH_2$.

Acest studiu QSAR preliminar este sugestiv pentru informaţiile structurale, cu caracter predictiv, care pot fi obţinute într-un timp relativ scurt şi cu costuri minime. Extinderea investigaţiilor în spaţiul 3D ne va oferi, fără îndoială, informaţii suplimentare care pot ajuta la înţelegerea mai detaliată a interacţiunilor biologice la nivel molecular, permiţând, pe această bază, predicţii structurale mai bune.

Bibliografie

1. CIUBOTARIU D., DERETEY E., MEDELEANU M., GOGONEA, V. and IORGA, I., New Shape Descriptors for Quatitative Treatment of Steric Effects. I. The Molecular van der Waals Volume, Chem. Bull. PIT, 1990, 35, 83-98
2. DĂNILĂ GHEORGHE şi RUSU GEORGETA – Medicamente chinolonice, Prezent şi viitor în chimioterapia antiinfecţioasă, Iaşi, 2001, pp.63 –94.
3. FRIGOLA JORDI, PARES JUAN, CORBERA JORDI, VANO DAVID, MERCE RAMON, TORRENS ANTONI, MAS JOSEP si VALENTI EDUARD – 7 – Azetidinylquinolones as Antibacterial Agents. Synthesis and Structure – Activity Relationships , J. Med. Chem., 1993, 36, pp. 801-810.
4. SIMON Z., CHIRIAC A., HOLBAN S., CIUBOTARIU D si MIHALAS G. I. – Minimum Steric Difference. The MTD method for QSAR Studies, Wiley, New York, 1984.

ANALIZA SPECTRALĂ ÎN UV A UNOR DERIVAȚI CROMANONICI CU AZOT ŞI SULF ÎN MOLECULĂ

*M. I. Lazăr, *Doina Lazăr, **Al. Caşcaval,
*Andreia Corciovă
*Universitatea de Medicină şi Farmacie "Gr. T. Popa", Iaşi, Facultatea de Farmacie, Disciplina Controlul Medicamentelor,
** Facultatea de Chimie

Abstract
This study was designed to present the spectral characterization in UV of ten cromanones derivatives with sulphur (Table 2).
Spectral assay was performed in chloroform solution concentration between 0.0025-0.01 g%, using 1 cm quartz cuvette and V-530 Jasco spectrophotometer.
After UV spectral representation, we can observe absorption spectra between 283-345 nm, with maximum around 340 nm wavelength, enough intense for each of them and who was used for quantitative assay elaboration.

Introducere

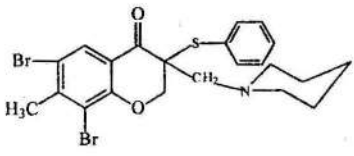
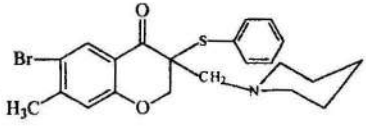
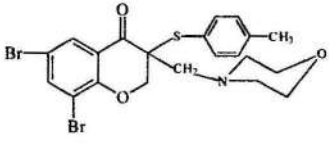
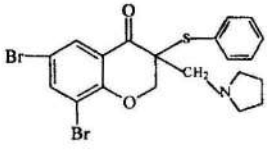
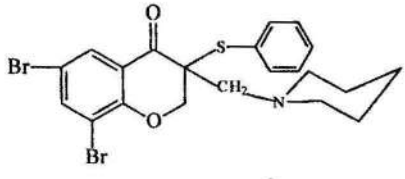
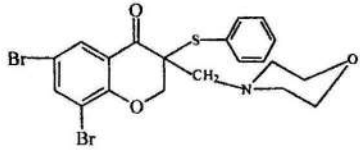
Substanțele flavonice sunt compuşi cu structură fenolică, cu largă răspândire în domeniul vegetal. Implicate în procese biologice complexe la nivelul celulei şi a membranei celulare, flavonele au constituit subiectul a numeroase cercetări. Studiile farmacodinamice au pus în evidență importante acțiuni farmacologice: acțiune capilaro-protectoare, anticancerigenă, antiradicalică, hepato-protectoare, antimicrobiană asupra unor microorganisme test, anti-HIV, antiinflamatoare, diuretică şi antigutoasă, spasmolitică, hipoglicemiantă, în scleroza multiplă, Alzheimer, boala Crohn.

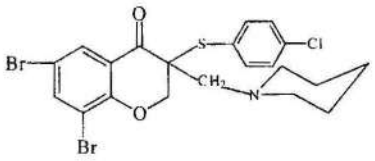
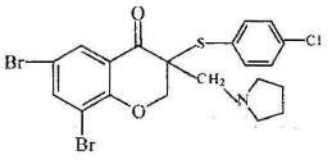
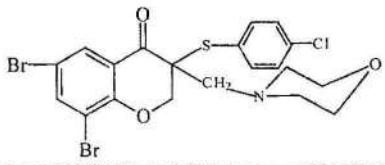
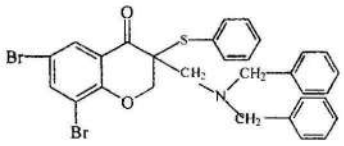
Continuând seria analizelor compuşilor flavonici, studiul de față îşi propune caracterizarea a 10 noi derivați de cromanone, cu ajutorul spectrelor de absorbție în UV. Structurile compuşilor analizați au fost confirmate prin analiză elementală (tabelul 1) şi sunt prezentate în tabelul 2.

Tabel 1. Analiza elementală

PROBA	GM	C %	H %	N %
1	523	50,47	4,01	2,67
2	446	59,19	5,38	3,13
3	517	46,42	4,44	2,70
4	486	46,91	4,11	2,88
5	510	49,91	3,92	2,74
6	513	47,78	3,70	2,72
7	545	46,23	3,66	2,56
8	531	45,19	3,38	2,63
9	547	43,87	3,29	2,55
10	623	57,78	4,01	2,24

Tabel 2. Structura substanţelor analizate

STRUCTURE OF SUBSTANCES	
1 	2 
3 	4 
5 	6 

7 	8 
9 	10 

Material şi metodă

Solvenţi:

- cloroform.

Aparatură:

- spectrofotometru JascoV-530 UV-VIS, cuve de cuarţ de 1 cm.

Compuşii analizaţi sunt insolubili în apă şi solubili în cloroform (λ = 245 nm), solvent în care s-au efectuat determinările, ţinându-se cont de absorbţiile substanţelor de analizat şi de concentraţiile probelor, astfel încât să se înscrie în scala de înregistrare a aparatului.

S-au stabilit maximele de absorbţie ale soluţiilor cloroformice, cu ajutorul spectrofotometrului, în domeniul 200-400 nm, pentru concentraţii cuprinse în intervalul 0.0025-0.01 g%, trasându-se spectrele de absorbţie şi dreptele de regresie şi calculându-se valorile ecuaţici A = ax + b.

Rezultate şi discuţii

Spectrele electronice în UV se reprezintă prin înregistrarea de către spectrofotometru a absorbanţei în funcţie de lungimea de undă în nm. Se reprezintă pe abscisă lungimea de undă, iar pe ordonată absorbanţa. În figurile 1-10 sunt prezentate spectrele de absorbţie UV reprezentative pentru substanţele analizate.

Se poate observa că toate spectrele de absorbţie au peak-uri de intensitate maximă în intervalul 340-344 nm, iar substanţa 10 prezintă încă 2 peak-uri, la 286 şi 392 nm, peak-uri datorate tranziţiilor electronice de tip n- π^*, π-π^* , n- σ^*.

În figurile 11, 12 sunt prezentate dreptele de regresie ale substanţelor notate 1 şi 10, la lungimea de undă 340 nm, iar în tabelele 3, 4 algoritmul de calcul a ecuaţiilor dreptei de regresie pentru acestea.

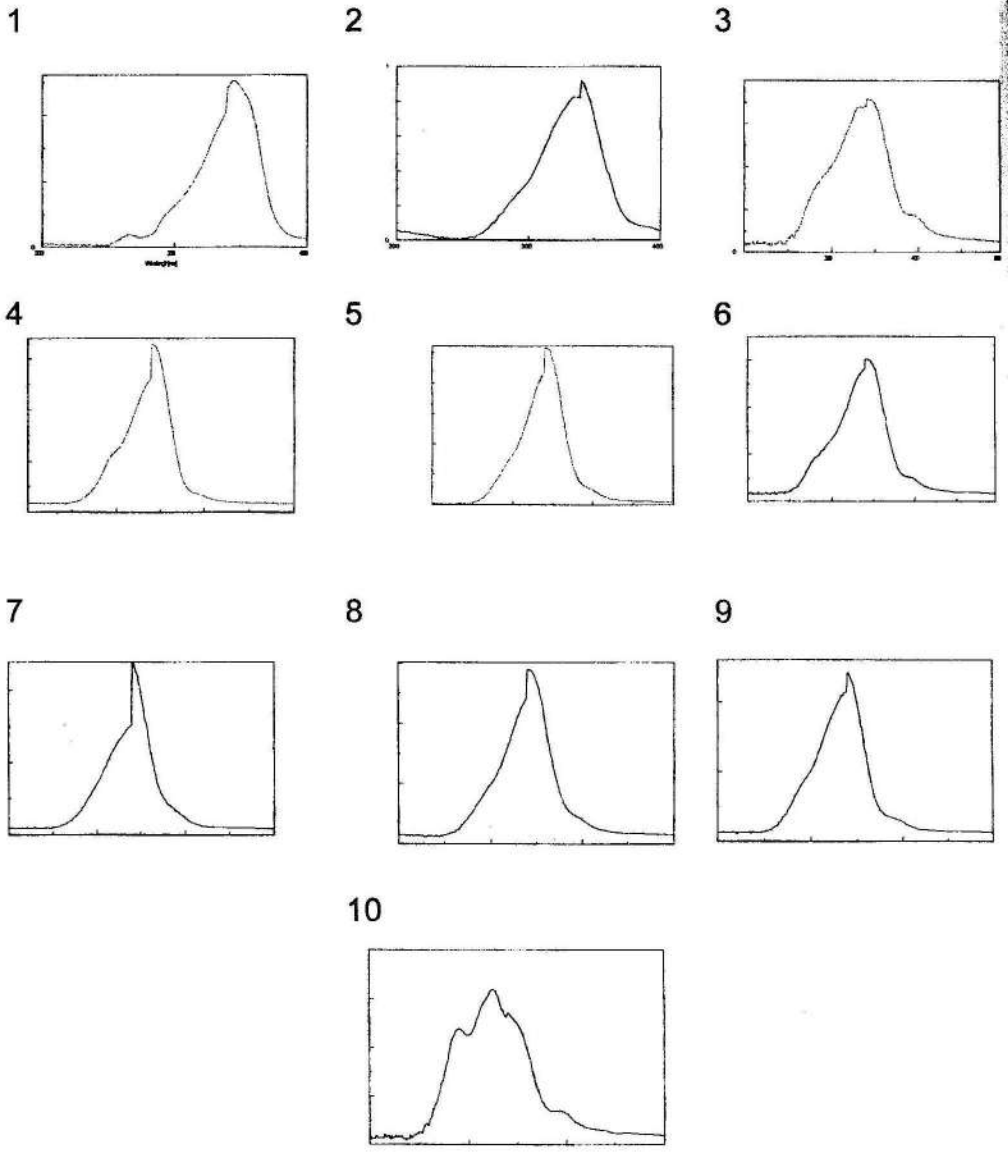
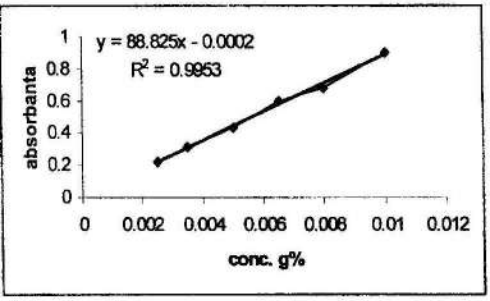


Fig. 10. Spectrele UV ale cromanonelor analizate



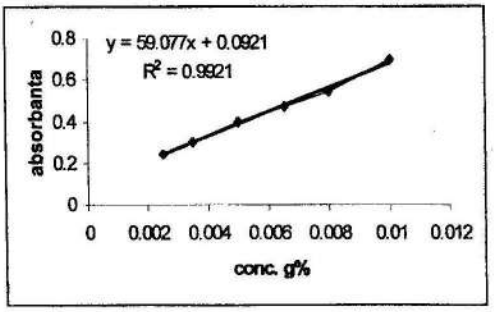


Fig. 11. Dreapta de regresie - proba 1

Fig. 12. Dreapta de regresie - proba 10

Tabel 3. Algoritm de calcul – proba 1

PROBA	x_i (c)	$x_i^2 .10^{-5}$	Y_i (A)	y_i^2	$x_i.y_i$
1	0.0025	0.625	0.2241	0.0502	0.000560
2	0.0035	1,225	0.3133	0.0981	0.001096
3	0.005	2.5	0.445	0.1980	0.002225
4	0.0065	4.225	0.5988	0.3585	0.003892
5	0.008	6.4	0.6982	0.4874	0.005585
6	0.01	10	0.8998	0.8096	0.008998
Σ	0.0355	24.975	3.1792	2.0018	0.022356

Tabel 4. Algoritm de calcul – proba 10

PROBA	X_i (c)	$x_i^2 .10^{-5}$	y_i (A)	y_i^2	$x_i.y_i$
1	0.0025	0.625	0.24	0.0576	0.0006
2	0.0035	1,225	0.30	0.09	0.00105
3	0.005	2.5	0.40	0.16	0.002
4	0.0065	4.225	0.47	0.2209	0.003
5	0.008	6.4	0.54	0.2916	0.0043
6	0.01	10	0.7	0.49	0.007
Σ	0.0355	24.975	2.65	1.3101	0.01795

Tabelul 5 prezintă parametrii statistici calculaţi pentru probele 1 şi 10.

Tabel 5. Parametri statistici

PARAMETRI	VALORI - PROBA 1	VALORI – PROBA 10
n	6	6
$\overline{X}$	0.5298	0.441
σ	0.2519	0.167
σ_R	0.4754	0.3786
σ_m	0.1028	0.o6819
R	2.1032	2.6407
LD	0.0093	0.0093
LQ	0.0282	0.0282
I	0.0025-0.0065	0.0025-0.0065

Concluzii

1. În urma unor teste farmacologice, derivații cromanonici sintetizați și analizați pot fi considerați substanțe terapeutic active.

2. Deoarece pot fi caracterizate spectral în UV, s-au elaborat metode de determinare cantitativă.

Bibliografie

1. CAȘCAVAL Al., Synthesys, 1984, 3, 277
2. LAZĂR M.I., LAZĂR D., DIACONU E., CAȘCAVAL AL., HUHUREZ G., J. Pharm. Biomed. Anal.,1999, 20, 573
3. LAZĂR M. I., LAZĂR DOINA, DIACONU D. E., LAZĂR H., CORCIOVĂ andreia, Tsakalis D., Chromatographical and spectrometric methods for some bromides derivatives of chromones and flavones assay, 1st International Pharmaceutical Congres, Atena, 2001, April
4. LAZĂR M. I., LAZĂR DOINA, CAȘCAVAL Al., CORCIOVĂ ANDREIA, LAZĂR T. I., Analiza spectrală în UV a unor derivați cromanonici cu potențial terapeutic, Simpozionul "Ziua medicamentului", ediția XI, Iași, 2002, 55-59
5. SANDULACHE A., CAȘCAVAL Al., TONIUTTI N., GIMANINI A.G., Tetrahedron, 1997, 53, 9813

STUDIUL CLINIC DE BIOECHIVALENTA A DOUA FORMULARI DE AMOXICICILINA SUSPENSIE

I. Savu, S. Surdulescu, M. Suta, C. Sava, L. Petcu,
M. Botnarciuc, V. Sauciuc, A. Zugravu, V. Botnarciuc,
F. Buruiana
Universitatea "Ovidius", Facultatea de Medicină, Constanța

Abstract
The aim of this bioequivalence study was to compare two different formulations of amoxicillins oral suspention 500 mg/5 ml: Amoxicillin EMS Industry Farmaceutica Ltd. Brasil-test formulation and Amoxil Smithkline Beecham Brasil-reference formulation. It was an open, radomised, criss cross, and unique dose study, realised on 24 healthy volunteers. This study was divided in two periods, separated by a two weeks break.
Our primary objective was to compare their biodisponibility using the statistical criteria of the FDA recommended farmacokinetic parameters: AUC_{o-t} (the area under the curve of plasmatic concentrations depending on time), $AUC_{o-\infty}$ (the extrapolated area under the plasmatic concentrations depending on time), C_{max} (maximum plasmatic concentration), T_{max} (time to reach C_{max}).
The dosage of the plasmatic concentrations was made by a HPLC method.
The statistical study was made using a Kinetica 4. 0. 1. version computer program. The 90% confidence interval for AUC and C_{max} was calculated by a logaritmic transformation of the parameters, and by the aplication of Schuirmann test. T_{max} values were analysed by the nonparametric test Kruschall-Wallis.
The tested dosage form was considered bioequivalent to the reference dosage one with regard to the extent of absorbtion, if the 90% confidence intervals of AUC ratio and C_{max} ratio were within the range of 0.80-1.25. T_{max} was the 0.80-1.20 domain.

Introducere

Amoxicilina este o aminopenicilină rezistentă la acidul clorhidric, care se absoarbe bine în intestin, având o biodisponibilitate de 93%. Realizează concentrații plasmatice mari - 4 μg/ml la două ore de la administrarea orală de 250 mg de amoxicilină. Se leagă de proteinele plasmatice în proporție de 18%, are un timp de înjumătățire de 1,7 ore și se elimină prin urină în proporție de 86% în forma neschimbată (7,15). Amoxicilina are un spectru antimicrobian mai mare

decât penicilinele naturale, fiind activă şi pe unii bacili gram negativi cum ar fi *Haemofilus influenzae*. Este indicată în infecţii respiratorii, ORL, urinare, digestive.

Obiectivul lucrării a fost determinarea biodisponibilităţii şi profilului farmacocinetic a două preparate de amoxicilină suspensie şi stabilirea bioechivalenţei lor. Amoxicilină testată a fost a firmei EMS Pharmaceutical Industry Ltd Brasil, iar amoxicilina de referinţă a fost a firmei Smithkline Beecham SA Brasil.

Material şi metoda

Studiul s-a desfăşurat în conformitate cu: Regulile de Bună Practică în Studiul Clinic şi normele de aplicare, aprobate prin Hotărârea Consiliului Ştiinţific al Agenţiei Naţionale a Medicamentului nr. 18/14.X.1999 (16), Normele cu privire la Evaluarea echivalenţei terapeutice a produselor medicamentoase multisursă în vederea autorizării în România, aprobate prin Hotărârea Consiliului Ştiinţific al Agenţiei Naţionale a Medicamentului nr. 14/14.X.1999 (17), Ordinul Ministerului Sănătăţii şi Familiei nr. 579/2001 privind studiile clinice în domeniul medicamentului.

Pentru desfăşurarea studiului a fost necesară crearea condiţiilor şi a structurilor organizatorice legale (2,12,16,17), deoarece acesta a fost primul studiu efectuat în Constanta. S-au parcurs următoarele etape: contract de colaborare între Organizaţia de Cercetare prin Contract (OCC), S.C. Medica Media SRL şi Facultatea de Medicină Constanţa, contract de colaborare OCC şi Spitalul Clinic Municipal Constanţa, constituirea Comisiei instituţionale de etică şi a Comisiei pentru asigurarea calităţii la nivelul spitalului, acreditarea spitalului de către MSF pentru desfăşurarea studiilor clinice de bioechivalenţă, aprobarea protocolului de către membrii echipei studiului, de către comisia instuţională de etică, de directorul spitalului, de Agenţia Naţională a Medicamentului.

Preparatele de amoxicilina studiate au fost: AMOXICILINA suspensie orală 500 mg/5 ml Lot Nr. 6 Test 01 Exp. 05.2003 EMS Pharmaceutical Industry Ltd. Brasil, medicament testat (T)) şi AMOXIL suspensie orală 500 mg/ml Lot CD 0014 Exp. 04. 2003 Smithkline Beecham SA Brasil, medicament de referinţă (R).

Voluntarii studiului au fost 26 de bărbaţi caucazieni, cu vârste între 19-26 ani, recrutaţi pe baza unor criterii de includere şi excludere. Au fost folosiţi 24 de voluntari, ceilalţi doi constituind rezerva în cazul retragerii din studiu a unuia dintre voluntarii incluşi. Toţi voluntarii au semnat consimţământul informat de participare, după ce au primit informaţiile despre studiu şi amoxicilină, scris şi oral (2,12,16).

Studiul a fost randomizat, cu două perioade de tratament, cu două tratamente, încrucişat, cu doză unică.

Studiul s-a efectuat în mai multe etape: etapa de screening prestudiu, prima perioadă de tratament, a doua perioadă de tratament, etapa de screening poststudiu (2,4,8,13,14).

Etapa de screening prestudiu a cuprins: anamneza, examenul clinic, examenul paraclinic hematologic, biochimic, serologic (HIV, Ag. HBs., Ac. HC)) şi a început cu 12 zile înainte de prima perioadă de tratament.

În prima perioada de tratament voluntarii au fost internaţi în clinică într-o zi de sâmbătă la ora 7.00. S-a făcut o scurtă anamneză, examen clinic sumar, s-au aplicat branulele şi s-a prelevat prima proba de sânge. Apoi s-au administrat 500 mg din cele două preparate de amoxicilină conform randomizării, începând cu ora 8.00. Probele de sânge s-au prelevat la următoarele intervale de timpi de la administrarea amoxicilinei: 0.30h; 1h; 1.30h; 2h; 3h; 4h; 6h; 8h 10h; 12h; 24h. Probele au fost centrifugate, iar plasma pusă în criotuburi şi păstrată la congelator la –20 grade Celsius până la dozare. A fost servit micul dejun şi dejunul la ora 10.30, respectiv la ora 14.30. S-a făcut externarea începând cu ora 20.00. Recoltarea ultimei probei de sânge la 24 ore s-a făcut a doua zi începând cu ora 8.00.

A doua perioadă de tratament a început la 2 săptămâni după prima perioadă. Modul de desfăşurare a fost identic cu cel din prima perioadă (inclusiv aceeaşi mâncare la mic dejun şi dejun), dar s-a inversat administrarea celor două preparate de amoxicilină la voluntari.

Etapa de screening poststudiu s-a desfăşurat în primele 72 ore după perioada a doua. S-au efectuat: anamneza, examenul clinic, examenul paraclinic, hematologic şi biochimic. Nu au existat modificări faţă de screeningul iniţial.

Analiza cantitativă a amoxicilinei (1,5,6,11) s-a efectuat cu ajutorul metodei cromatografice cu lichide de înaltă performanţă (HPLC), cu un cromatograf-WATERS.SYSTEM, integrator-Millenium, versiunea 2.15, coloana analitică-XTerra, RP 18, 5 μm, 150x4,6 mm. Criteriile de validare a metodei analitice au fost: precizia şi acurateţea, repetabilitatea (intraday analysis), reproductibilitatea (interday analysis), liniaritatea, stabilitatea, specificitatea, extracţia.

Analiza farmacocinetică (5,6)

Aria de sub curbă (ASC $_{0-t}$ si ASC $_{0-\infty}$), care indică mărimea absorbţiei pe o perioadă de 24 ore, s-a calculat prin metoda trapezelor prin program de calculator Kinetica 4.01 (Inna Phase-USA). Concentraţia maximă plasmatică (C_{max}) şi timpul necesar atingerii concentraţiei maxime plasmatice (T_{max}), care indică viteza absorbţiei, s-au determinat pentru fiecare voluntar din curbele concentraţiilor plasmatice în funcţie de timp şi pentru fiecare produs din media concentraţiilor individuale.

Analiza statistică

Bioechivalenţa s-a studiat folosind programul Kinetica versiunea 4. 0. 1. (InnaPhase-USA). S-a folosit testul de variantă ANOVA (2 tratamente, 2 perioade, încrucişat, randomizat).

Pentru ASC şi C_{max} s-a făcut transformarea logaritmică a datelor şi a fost folosit testul t dublu unilateral Schuirman (10). Bioechivalenţa a fost acceptată dacă intervalul de încredere 90% (3,6,9,14) pentru raportul valorilor logaritmice medii s-a încadrat în intervalul de bioechivalenţă 0,8-1,25.

Diferenţele între Tmax s-au estimat printr-o metodă statistică nonparametrică Kruschal Wallis; pentru intervalul de încredere 90%, intervalul de bioechivalenţă este 0,8-1,2.

Rezultate

Valorile medii ale celor două preparate de amoxicilină sunt redate în Tab.1 şi Fig. 1, respectiv în Tab. 2 şi Fig. 2 precum şi în Fig. 3.

Tabel 1 Valorile medii ale concentraţiilor plasmatice ale produsului testat Amoxicilina (EMS Pharmaceutical Industry Ltd. Brasil) suspensie orală 500 mg/5 ml, după administrarea unei doze unice de 500mg, la 24 voluntari până la 24 ore de la administrare.

Timp de la administrare(h)	Minim mcg/ml	Maxim mcg/ml	Media mcg/ml	DS mcg/ml
0	0,00	0,00	0,00	0,00
0,5	4,49	5,35	4,73	0,20
1	8,30	9,83	9,40	0,37
1,5	8,10	8,90	8,47	0,22
2	6,42	7,03	6,71	0,20
3	2,84	3,77	3,63	0,19
4	2,84	3,20	3,01	0,11
6	1,88	2,10	1,97	0,06
8	1,34	1,49	1,41	0,04
10	0,80	0,96	0,88	0,05
12	0,56	0,69	0,62	0,04
24	0,31	0,44	0,38	0,05

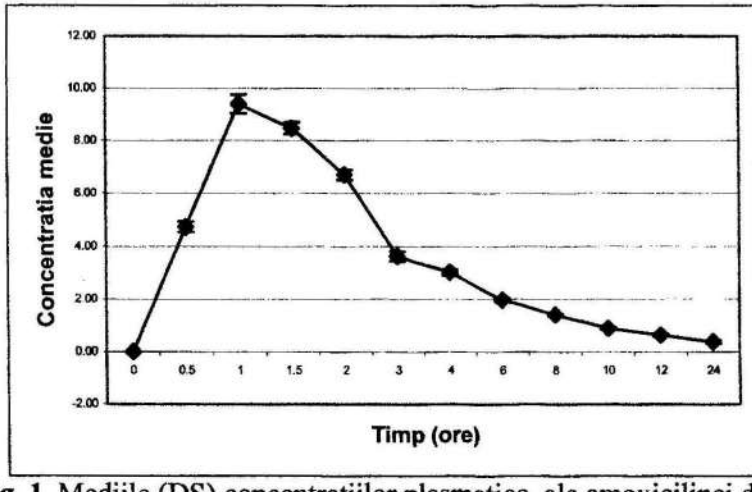


Fig. 1. Mediile (DS) concentraţiilor plasmatice ale amoxicilinei după administrarea preparatului Amoxicilina (EMS Pharmaceutical Industry Ltd. Brasil).

Tabel 2 Valorile medii ale concentrațiilor plasmatice ale produsului de referință Amoxil (Smithkline Beecham SA Brasil) suspensie orala 500mg/5ml, după administrarea unei doze unice de 500mg, la 24 voluntari până la 24 ore de la administrare.

Timp de la administrare(h)	Minim mcg/ml	Maxim mcg/ml	Media mcg/ml	DS mcg/ml
0	0,00	0,00	0,00	0,00
0,5	4,12	5,55	4,66	0,25
1	9,18	9,85	9,50	0,19
1,5	8,19	8,85	8,49	0,19
2	6,46	7,04	6,73	0,18
3	3,52	3,84	3,66	0,08
4	2,83	3,24	3,02	0,11
6	1,85	2,06	1,96	0,05
8	1,34	1,49	1,41	0,04
10	0,81	0,95	0,88	0,05
12	0,56	0,69	0,63	0,04
24	0,32	0,48	0,38	0,05

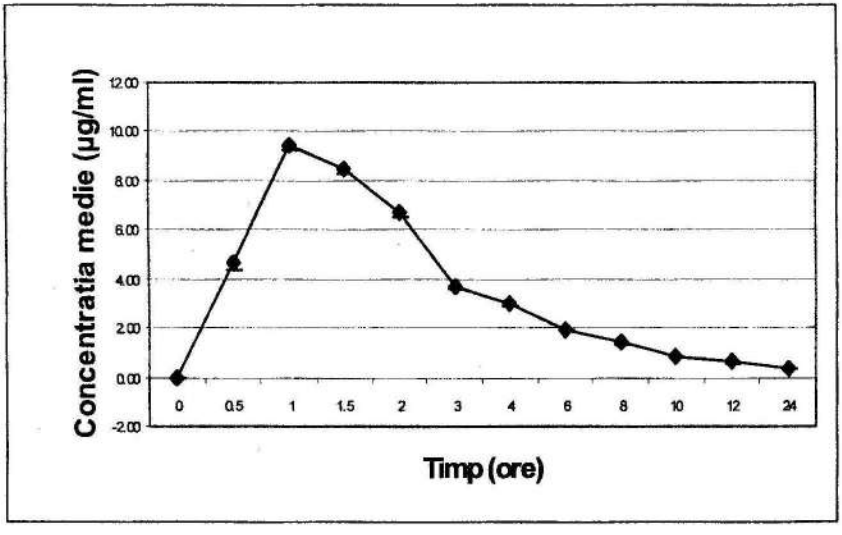


Fig. 2 Mediile (DS) concentrațiilor plasmatice ale amoxicilinei după administrarea preparatului Amoxil (Smithkline Beecham SA Brasil).

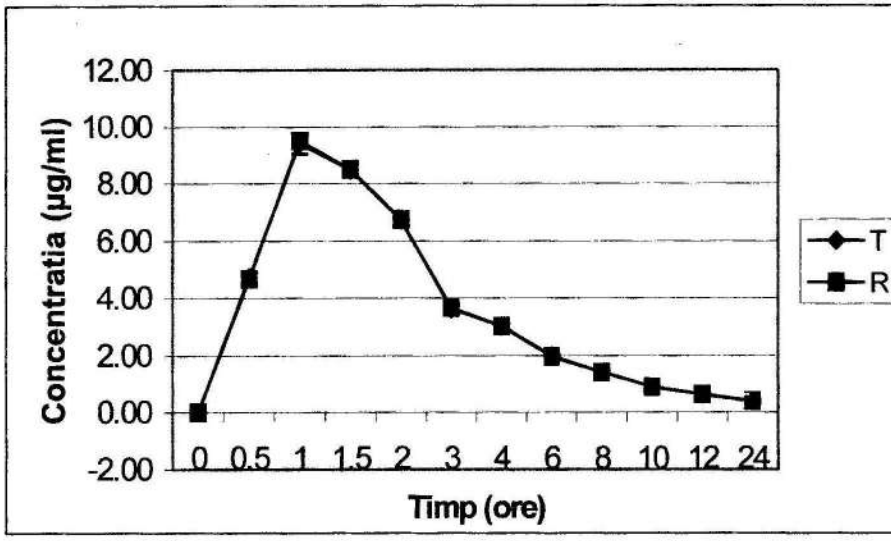


Fig. 3 Mediile (DS) concentraţilor plasmatice ale amoxicilinei după administrarea preparatelor Amoxicilina (EMS Pharmaceutical Industry Ltd. Brasil) şi Amoxil (R-Smithkline Beecham SA Brasil).

În Fig. 3 se observă că cele 2 curbe ale concentraţiilor medii plasmatice ale celor două preparate de amoxicilină suspensie sunt aproape identice.

Analiza farmacocinetică

Parametrii farmacocinetici ai celor două de preparate de amoxicilină suspensie sunt redaţi în Tab.3 şi Tab.4

Tabel 3 Valoarea parametrilor farmacocinetici pentru produsul *Amoxicilina* suspensie orală 500mg/5ml (EMS Pharmaceutical Industry Ltd. Brasil).

Medicament	**Voluntar**	**C_{max} mcg/ml**	**T_{max} h**	**AUC_{0-t} (h)(mcg/ml)**	**$AUC_{0-\infty}$ (h)(mcg/ml)**
Amoxicilina	V01	9,19	1	38,45	40,43
Amoxicilina	V02	9,63	1	39,89	42,86
Amoxicilina	V03	9,69	1	40,41	43,49
Amoxicilina	V04	9,6	1	38,62	40,73
Amoxicilina	V05	9,41	1	38,17	40,27
Amoxicilina	V06	9,47	1	40,03	43,02
Amoxicilina	V07	9,54	1	40,01	43,11
Amoxicilina	V08	9,35	1	38,67	40,79
Amoxicilina	V09	9,81	1	40,43	43,5909

Amoxicilina	V10	9,59	1	38,38	40,5277
Amoxicilina	V11	9,46	1	39,02	42,2214
Amoxicilina	V12	9,23	1	38,37	40,28
Amoxicilina	V13	8,61	1,5	39,06	42,07
Amoxicilina	V14	8,4	1,5	37,95	40,02
Amoxicilina	V15	9,83	1	40,19	43,25
Amoxicilina	V16	9,59	1	38,44	40,61
Amoxicilina	V17	9,27	1	39,73	42,69
Amoxicilina	V18	9,15	1	38,71	40,63
Amoxicilina	V19	9,65	1	39,79	42,88
Amoxicilina	V20	9,41	1	38,38	40,43
Amoxicilina	V21	9,59	1	38,74	40,88
Amoxicilina	V22	9,8	1	40,14	43,14
Amoxicilina	V23	9,37	1	39,73	42,71
Amoxicilina	V24	9,13	1	38,21	40,11
Media		**9,40**	**1,04**	**39,15**	**41,70**
DS		**0,34**	**0,14**	**0,81**	**1,30**

Tabel 4 Valoarea parametrilor farmacocinetici pentru produsul Amoxil suspensie orala 500mg/5ml (Smithkline Beechamp SA Brasil).

Medicament	**Voluntar**	**C_{max} mcg/ml**	**T_{max} h**	**AUC_{0-t} (h)(mcg/ml)**	**$AUC_{0-\infty}$ (h)(mcg/ml)**
Amoxil	V01	9,42	1	40,58	43,55
Amoxil	V02	9,41	1	38,46	40,55
Amoxil	V03	9,51	1	38,29	40,43
Amoxil	V04	9,65	1	40,39	43,34
Amoxil	V05	9,83	1	40,83	44,35
Amoxil	V06	9,23	1	38,69	40,66
Amoxil	V07	9,21	1	38,45	40,43
Amoxil	V08	9,43	1	39,8	42,76
Amoxil	V09	9,59	1	38,19	40,41
Amoxil	V10	9,85	1	40,22	43,27
Amoxil	V11	9,41	1	38,65	40,82
Amoxil	V12	9,67	1	39,44	42,47
Amoxil	V13	9,23	1	38,36	40,31
Amoxil	V14	9,42	1	39,96	42,83
Amoxil	V15	9,58	1	37,91	40,04
Amoxil	V16	9,8	1	40,12	43,19
Amoxil	V17	9,41	1	38,46	40,55

Amoxil	V18	9,62	1	39,93	42,99
Amoxil	V19	9,18	1	38,56	40,58
Amoxil	V20	9,31	1	39,74	42,66
Amoxil	V21	9,68	1	40,19	43,45
Amoxil	V22	9,49	1	38,53	40,66
Amoxil	V23	9,4	1	38,40	40,46
Amoxil	V24	9,6	1	39,74	42,84
Media		**9,49**	**1**	**39,24**	**41,82**
DS		**0,19**	**0**	**0,90**	**1,40**

Analiza statistică

Rezultatele analizei statistice a studiului de bioechivalenţă pentru amoxicilina testată-Amoxicilina EMS Pharmaceutical Industry Ltd Brasil, în comparaţie cu amoxicilina de referinţă - Amoxil Smithkline Beechamp SA Brasil sunt redate în Tab. 5.

Tabel 5 Rezultatele analizei statistice a studiului de bioechivalenţă între Amoxicilina EMS Pharmaceutical Industry Ltd. Brasil şi Amoxil Smithkline Beechamp SA Brasil

Parametru farmacologic	**Amoxicilina Media(DS)**	**Amoxil Media(DS)**	**Interval încredere 90%**
ASC_{0-t} (h)(mcg/ml)	39,1524 (0,8189)	39,2496 (0,9052)	[0.987, 1.017]
$ASC_{0-\infty}$ (h)(mcg/ml)	41,7008 (1,3007)	41,8226 (1,4050)	[0.948, 1,0192]
Cmax (mcg/ml)	9,4070 (0,3452)	9,4970 (0,1938)	[0.987, 1.0154]
Tmax (h)	1,0416 (0,1411)	1 (0,0)	[0.949, 1,0505]

Analiza statistică a evidenţiat că ASC_{0-t} şi $ASC_{0-\infty}$ au raportul valorilor medii de 0,9975, respectiv 0,9970, iar intervalul de încredere 90% este de 0.987-1,017, deci în domeniul de bioechivalenţă.

C_{max} are raportul valorilor medii de 0,9905, iar intervalul de încredere de 90% este de 0,987-1,0154, deci în domeniul de bioechivalenţă.

T_{max} are o diferenţă între valorile medii de 0,0416 ore, iar intervalul de încredere de 90% este de 0,949-1,0505. Chiar dacă T_{max} este în domeniul de bioechivalenţă, încadrarea lui în afara acestui domeniu era nesemnificativă din punct de vedere clinic.

Concluzie

Cele doua formulări de amoxicilină: AMOXICILINA (T) suspensie orală 500 mg/5 ml EMS Pharmaceutical Industry Ltd. Brasil şi AMOXIL (R) suspensie orală 500 mg/5 ml Lot CD 0014 Exp. 04. 2003 SmithKline Beecham SA Brasil sunt bioechivalente, atât din punct de vedere al mărimii, cât şi al vitezei absorbţiei.

Bibliografie

1. CAUSY AG, HILL HM, PHILLIPS LJ, Evaluation of criteria for acceptance of bioanalytical data, J Pharm Biomed Anal 1990, 8, 625-628.
2. COHEN A, POSNER J.A, Guide to clinical drug research, Kluwer Academic Publishers 2000.
3. COM NOUGUE C, RODARY C, Revue des procedures statistiqes pour mettre en evidence l'eqivalence de deux traitements. Rev Epidem Sante Pub 1992, 35, 416-430.
4. JAMINET F, Biodisponibilite des de formes farmaceutiqes et exigences en matiere de bioeqivalence, J Pharm Belg 1978, 33, 141-156.
5. LEUCUTA SE, POP R, Farmacocinetica, Editura Dacia, Cluj-Napoca 1981.
6. LEUCUTA SE, Tehnologie farmaceutică industrială, 107-143, Editura Dacia, Cluj-Napoca 2001.
7. MANDELL GL, PETRI WA, Pencillins, cephalosporins and other beta-lactam antibiotics in Goodman and Gilman's The pharmalogical basis of terapeutics, 1073-1101, McGraw Hill, New York 1996.
8. PABST G, JAEGER H, Review of methods and criteria for the evaluation of bioequivalence studies, Eur J Clin Pharmachol 1990, 38 (1), 5-10.
9. PIDGEN A, Statistical aspects of bioequivalence: a review. Xenobiotica 1992, 22 (7), 881-893.
10. SCHUIRMANN DJ, A comparison of the two one-sided tests procedure and the powerapproach for assessingthe equivalence of average bioavaibility, J Pharmacokinet Biopharm 1987; 15 (6) 657-680.
11. SHAH VP, MIDHA KK, MCGILVERAY IJ, SKELLY JP, YACOBI A, LAYOFF T, VISWANATHAN CT, COOKCE, MCDOWALL RD, Analitical methods validation: bioavailability, bioequivalence and pharmacokinetic studies. Conference report, Eur J Drug Metab Pharmacokinet 1991, 16 (4), 249-255.
12. SHIMM DS. SPECE RG, Ethical issues and clinical trials, Drugs 1993, 46 (4), 579-584.
13. STEIMER JL, THEBAULT JJ, Bioequivalence de formes farmaceutiques, Therapie 1980, 35, 743-747.
14. STEINIJANS V W, HAUSCHKE D, JONKMAN JHG, Controversies in bioequivalence studies, Clin Pharmacokinet 1992, 22, 347-253.
15. STROESCU V, Bazele farmacologice ale practicii medicale, 1215-1239, Editura Medicală, Bucureşti 1998.
16. xxx AGENŢIA NAŢIONALĂ A MEDICAMENTULUI. Hotarârea Consiliului Ştiinţific nr. 18/09. 12. 1999. Regulile pentru Bună Practică în Studiul Clinic şi Normele privind Regulile de Bună Practică în Desfăşurarea Studiului Clinic al Medicamentelor în România.
17. xxx AGENŢIA NAŢIONALĂ A MEDICAMENTULUI, Hotărârea Consiliului Ştiinţific nr. 14/14. 10. 1999. Evaluarea echivalentei terapeutice a produselor medicamentoase multisursă în vederea autorizării lor în România.

SENSIBILITATEA LA CIPROFLOXACINĂ A STAFILOCOCILOR

I. Bădicut, Antonia Poiata, C. Tuchilus, L. Grigore, D. Buiuc
U.M.F. "Gr. T. Popa" Iaşi, Disciplina de Microbiologie

Abstract
Purpose: to follow- up ciprofloxacin sensitivity of communitary and hospital staphylococcal strains isolated during 2000-2002 in the Eastern region of Romania. Material and methods: We have tested 1022 *Staphylococci strains*, identified by classical methods. Minimum Inhibitory Concentrations (MICs) were determined by agar dilution method, according to NCCLS (1990). Results: For both hospital and communitary isolates, MIC 90 was 0,25 mg/L (4 fold less than breakpoint for sensitivity). Resistance was absent or reduced (1,7%) for coagulase positive staphylococci , both communitary and hospital. For coagulase negative staphylococci, resistance for clinical strains is increased (6%) compared to comunitary strains (0,3%). Conclusions: Ciprofloxacin is highly effective against staphylococci representing a therapeutic option for multiresistant strains.

Introducere

Ciprofloxacinul posedă un spectru larg de acţiune, cu o activitate antimicrobiană remarcabilă asupra unui număr mare de specii, inclusiv *Pseudomonas aeruginosa* şi *Staphylococcus aureus* meticilin-rezistent (SMR). Este unul dintre cei mai activi agenţi din grupul chinolonelor moderne. Studiile au arătat că nivelul concentraţiei oculare atinse de ciprofloxacin este suficient pentru tratarea eficientă a infecţiilor oftalmice cauzate de numeroşi patogeni (Luthy şi colab., 1985). Studiul nostru are ca scop urmărirea sensibilităţii faţă de ciprofloxacin a unor stafilococi, izolate clinice şi comunitare, colectate într-un interval de 3 ani în estul României.

Material şi metode

Tulpini bacteriene. Au fost investigate 1022 tulpini de stafilococi obţinute din diferite probe biologice de la pacienţi spitalizaţi şi de la indivizi din comunitate, izolate în perioada 2000-2002 şi identificate prin metode clasice (tab. I).

Tabel I. Distribuţia izolatelor incluse în studiu

Izolate	Nr. izolate	Procent izolate
Izolate clinice		
Stafilococi coagulazo pozitivi	239	23,38
Stafilococi coagulazo negativi	203	19,86
Izolate comunitare		
Stafilococi coagulazo pozitivi	224	21,91
Stafilococi coagulazo negativi	356	34,83
Total	1022	100

Testarea sensibilităţii. Concentraţiile minime inhibitorii (CMI) ale ciprofloxacinului au fost obţinute prin metoda diluţiilor în agar Mueller-Hinton conform recomandărilor National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS, M-7-A2/1990). Procentele de rezistenţă au fost calculate pe baza punctului de ruptură (breakpoint) recomandat de NCCLS (≤1 mg/L) pentru categoria total sensibilă (izolatele moderat sensibile au fost clasificate ca rezistente). Pentru verificarea calităţii testării am utilizat tulpina de referinţă *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Rezultate

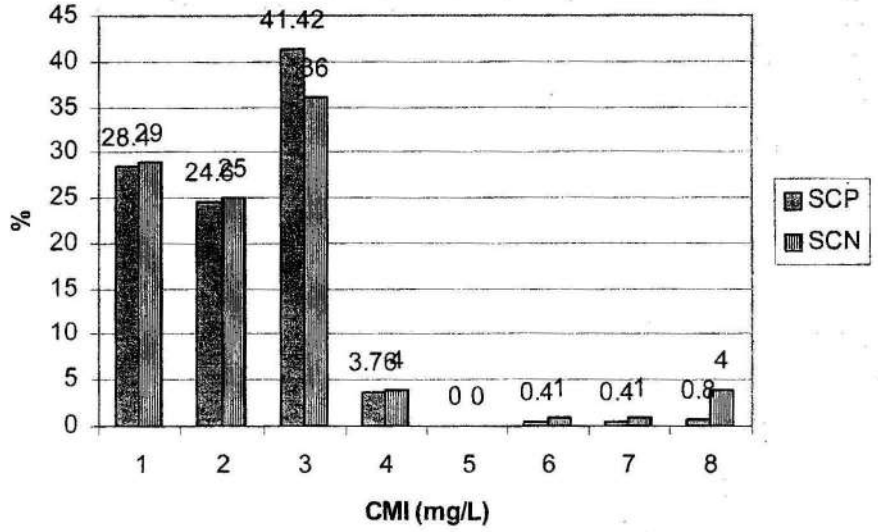
Detalii privind activitatea ciprofloxacinului asupra stafilococilor exprimată ca valori procentuale cumulative ale CMI sunt prezentate în tabelul II.

Majoritatea izolatelor au fost inhibate de valori ale CMI mai mici de 2-4 ori (0,25-0,5 mg/L) comparativ cu breakpoint stabilit pentru ciprofloxacin.

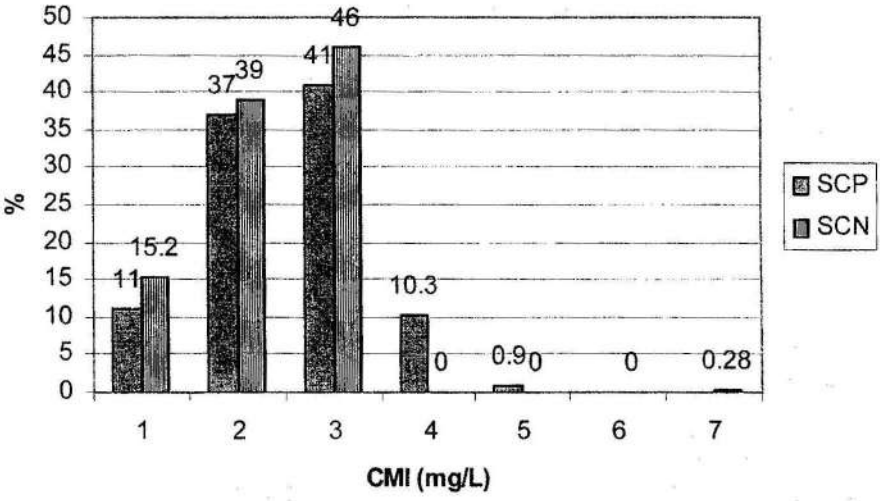
Valorile distribuţiei CMI pentru categoriile investigate de stafilococi sunt prezentate în figura 1. La concentraţia de 0,25 mg/L se înregistrează cel mai mare procent de tulpini inhibate, din toate categoriile.

Tabel II. Distribuţia procentuală cumulativă a CMI

Izolate	CMI (mg/L)							
	0,06	0,125	0,25	0,5	1	2	4	8
Izolate clinice								
Stafilococi coagulazo pozitivi	28,4	53,1	94,5	98,3	98,3	98,7	99,1	100
Stafilococi coagulazo negativi	29,1	54,1	90,1	94	94	95	96	100
Izolate comunitare								
Stafilococi coagulazo pozitivi	9	47,8	88,8	99,1	100			
Stafilococi coagulazo negativi	15,2	54,2	99,7	99,7	99,7	99,7	100	



a.



b

Fig. 1. Valorile procentuale ale CMI pentru ciprofloxacin corespunzătoare izolatelor de spital (a) şi comunitare (b)

Tabelul 3 însumează datele privind sensibilitatea față de ciprofloxacin a izolatelor investigate, prezentate ca valori ale CMI 50, CMI 90, limite ale CMI şi rata rezistenței.

Valorile CMI 90 ale ciprofloxacinului raportate la breakpoint stabilit sunt, pentru toate izolatele de 4 ori mai mici (0,25 mg/L). Rezistența este absentă sau redusă (1,7%) în cazul stafilococilor coagulazo-pozitivi izolate comunitare, respectiv clinice. În ce privește stafilococii coagulazo-negativi, rata de rezistență a izolatelor clinice (6%) este mai mare comparativ cu cea a izolatelor comunitare (0,3%). Datele obținute sugerează că rezistența la ciprofloxacin apare mai evident în cadrul stafilococilor coagulazo-negativi.

Tabel III. Activitatea *in vitro* a ciprofloxacinului asupra unui număr de 1022 stafilococi

Izolate	CMI 50 (mg/L)	CMI 90 (mg/L)	Limite CMI	Rezistența %
Izolate clinice				
Stafilococi CP	0,125	0,25	0,06-8	1,7
Stafilococi CN	0,125	0,25	0,06-8	6
Izolate comunitare				
Stafilococi CP	0,125	0,25	0,06-1	0
Stafilococi CN	0,125	0,25	0,06-4	0,3

Datele comunicate pentru alte țări europene indică rate de rezistență față de ciprofloxacin mai mari sau egale cu 13,5%. Stafilococii coagulazo-pozitivi prezintă rate de rezistență mai mari în Franța (30,5%), Austria (23,3%), Grecia (20,7%) și mai mici în Italia (11,3%) sau 0% în Germania (Kerken și colab., 1994).

Discuții

Studiul privind activitatea *in vitro* a ciprofloxacinului confirmă eficiența deosebită asupra stafilococilor. În cazul evaluării activității antimicrobiene stabilirea CMI este cea mai standardizată tehnică. În cazul ciprofloxacinului valorile CMI sunt relativ stabile la modificările densității inoculului, ale pH-ului și compoziției mediului recomandate de standarde (Bauernfeind, 1985).

Valorile CMI 50 si CMI 90 și limitele CMI obținute în acest studiu sunt apropiate de cele raportate, pentru stafolococi de Bauernfeind, pentru Germania, 1985. Acesta comunica valori ale CMI 50 și CMI 90 de 0,13 mg/L respective 0,5 mg/L.

CMI ale ciprofloxacinului au valori mai mari pentru izolatele clinice de stafilococi (limita superioară 8 mg/L). Însă, izolatele cu valori mari ale CMI sunt în majoritate tulpini SMR. Se cunosc două mecanisme de bază prin care bacteriile pot dobândi rezistența la chinolone: modificarea enzimei țintă AND-giraza (modificarea unui singur aminoacid în lanțul proteic al enzimei se traduce prin instalarea rezistenței) și diminuarea permeabilității membranare ca urmare a alterării porinelor membranei externe. La stafilococi, rezistența apare probabil și prin variații ale proceselor de intrare și ieșire a antibioticului din celulă (Wolfson și Hooper, 1989).

Chinolonele pot fi agenţi eficienţi asupra SMR, deşi este cunoscut că rezistenţa la meticilină este frecvent asociată cu rezistenţa la numeroşi alţi agenţi antimicrobieni (Brumfitt şi Hamilton-Miller, 1989). Rezistenţa la chinolone a fost frecvent comunicată când aceşti agenţi au fost utilizaţi pentru a eradica izolatele meticilin rezistente sau pentru a trata infecţiile stafilococice. Astfel, pe parcusrul terapiei cu ciprofloxacin a unor purtători de stafilococi meticilin rezistenţi (SMR), rezistenţa a apărut la 7 din 22 pacienţi (Mullingan şi colab., 1987). Totuşi rezistenţa stafilococilor la chinolone, pe parcursul terapiei cu aceşti agenţi a fost semnalată în asociere cu deficientele vasculare sau factorii care reduc concentraţia ciprofloxacinului la locul infecţiei (Humphreys şi Mulvihill, 1985; Fass, 1986; Nix şi colab., 1987). Riscul dezvoltării rezistenţei pe parcursul terapiei cu ciprofloxacin a fost evaluat la 11,8% (Milatovic şi Braveny, 1987). Studiile au demonstrat că utilizarea asociată a aminoglicozidelor pe durata terapiei poate limita dezvoltarea rezistenţei faţă de ciprofloxacin (Wallrauch- Schwarz şi colab., 1993). Cercetările efectuate de Michea- Hamzehpour şi colab. (1994) au demonstrat că asocierea ciprofloxacinului cu imipenem, ceftazidim sau cefpirom, produce o diminuare semnificativă a rezistenţei unor Gram negativi. Încă din 1984 când în Europa au fost comercializate primele fluorochinolone, consumul a crescut progresiv. Fluorochinolonele sunt utilizate mai frecvent în comunitate decât în spital. Studiile au arătat că din totalul chinolonelor, comunitatea consumă 75% în Germania şi 92% în Italia. Totuşi, în Italia, unde consumul de fluorochinolone în spital a fost moderat (89. 300 unităţi standard pentru 1 milion de pacienţi), rata rezistenţei *S. aureus* a fost mai ridicată (11,3%) comparativ cu Germania (5,4%), unde consumul pentru 1990 a fost de 143.300 unităţi standard (Kersken şi colab., 1994). S-a constatat că frecvenţa izolatelor rezistente de *S. aureus* obţinute din urină depăşeşte de peste 4 ori frecvenţa tulpinilor rezistente izolate din sânge. Acest aspect poate fi o urmare a utilizării frecvente a chinolonelor în terapia infecţiilor urinare.

În concluzie, rezultatele obţinute în studiul nostru reflectă eficienţa deosebită a ciprofloxacinului asupra stafilococilor, izolate comunitare şi de spital. Apariţia rezistenţei la fluorochinolone, răspândită mai ales printre stafilococii coagulazo negativi, este o problemă clinică şi poate fi prevenită printr-o utilizare adecvată a acestor agenţi. Fluorochinolonele sunt agenţi antibacterieni importanţi cu proprietăţi farmacocinetice deosebite (absorbţie, penetrare bună în ţesuturi) care fac ca acestea să fie prescrise în terapia infecţiilor necomplicate şi severe, pentru milioane de pacienţi, spitalizaţi şi nespitalizaţi, dar conservarea eficienţei terapeutice depinde de utilizarea raţională.

Bibliografie

1. BAUERNFEIND A., Antimicrobial Activity of Ciprofloxacin: An Overview, in: 1st International Ciprofloxacin Workshop. Proceedings, Ed. Neu H. C., Wenta H., 1985, 7-11.
2. BRUMFITT W., HAMILTON MILLER J, Methicillin resistant *S. aureus*, N Engl J Med, 1989, 320, 1188-1196.

3. FASS R. J., Treatment of skin and soft tissue infections with ciprofloxacin, J Antimicrob Chemother, 1986, 18, Suppl. D, 153-157.
4. HUMPHREYS H., MULVIHILL E., Ciprofloxacin resistant *Staphylococcus aureus*, Lancet, 1985, II, 383.
5. KERSKEN M., HAFNER D., MITTERMEYER H., VERBIST L., BERGOGNE- BEREZIN E., GIAMARELLOU H., ESPOSITO S., VAN KLINGEREN B., KAYSER F. H., REEVES D. S., WIEDEMANN B., and the Study group "Bacterial Resistance of the Paul Ehrlich Society for Chemotherapy, Prevalence of Fluorochinolone Resistance in Europe, Infection, 1994, 22, Suppl. 2, 90-98.
6. LUTHY R., JOOS B., GASSMANN F., Penetration of Ciprofloxacin into the human eye. In: 1st International Ciprofloxacin Workshop. Proceedings, Ed. Neu H. C., Wenta H., 1985, 192-195.
7. MICHEA- HAMZEHPOUR M., KAHR A., PECHERE J. C., *In vitro* Stepwise Selection of Resistance to Quinolones, beta- Lactams and Amikacin in Nosocomial Gram negative Bacilli, Infection, 1994 ,22, Suppl.2, pag. 105-110.
8. MILATOVIC D., BRAVENY J., Development of Resistance During Antibiotic Therapy, Eur J Clin Microbiol, 1987, 6, 234-244.
9. MULLIGAN M. E., RUANE L., JOHNSTON L., WONG P., WHEELOCK J. P., MACDONALD K., REINDARDT J.F., JOHNSON C. C., STATNER B., BLONDQUIST I., MCCARTHY J., O' BRIEN W., GARDNER S., HAMMER L., CITRON D., Ciprofloxacin for eradication of Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* Colonization, Am J Med, 1987, 82, 215-219.
10. NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS. Methods for Dilution, Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria that Grow Aerobically, 1990.
11. NIX D.E., CUMBO T. J., KURITZY P., DE VITO J. M., SCHENTAG J.J., Oral Ciprofloxacin in the Treatment of Serious Soft Tissue and Bone Infections, Am Med J, 1987, 82, Suppl 4A, 146-153.
12. WALLRAUCH- SCHWARTZ C., VOSS A., MILATOVIC D., BRAVENY I, Development of Resistance to New Beta- Lactams and Ciprofloxacin During Therapy Study. A Prospective Study, 1993, 33 rd ICAAC, USA, Abstr. 627.
13. WOLFSON J. S., HOOPER D. C., Bacterial Resistance to Quinolones : Mechanisms and Clinical Importance, Rev Infect Dis, 1989, 11, Suppl. 5, 960-968.

ACTIVITATEA COMPARATIVA *IN VITRO* A MEROPENEMULUI ASUPRA UNOR BACILI GRAM-NEGATIVI

Antonia. Poiată, C. Tuchilus, R. Filip, D. Rotaru,
I. Bădicut, A. Ambarus, D. Buiuc
U. M. F. "Gr. T. Popa", Iaşi, Disciplina de Microbiologie

Abstract
Meropenem is a new carbapenem with excellent activity against different Gram-negative and Gram-positive bacteria. Its good antibacterial activity is closely related to high hydrolysis resistance by bacterial beta-lactamases. The evaluation of antimicrobial activity of meropenem by comparison that of cefotaxim (CTA), ceftazidim (CAZ), ceftriaxone (CRO), aztreonam (AZT) and imipenem (IMI) against 396 *Enterobacteriaceae* collected in 2002 from "Sf. Apostol Andrei" Hospital, Galati, identified by Mini API system. Minimum inhibitory concentrations were determined by agar dilution technique. Antimicrobial agents tested: CTA, CAZ, CRO, AZT, IMI, MER. Meropenem has an antibiotic activity clearly superior to the other tested agents. Resistance rate is zero for *E. coli* and very low for *Enterobacter* spp.

Introducere

Amplificarea şi proliferarea rezistenţei printre patogenii nosocomiali şi din comunitate a dus la declinul eficienţei multor agenţi antimicrobieni (Fridkin et al., 1999; Sanders et al., 1984). Această tendinţă este efectul presiunii selective exercitate de utilizarea intensă a agenţilor antimicrobieni atât în spital, cât şi în comunitate. Degradarea enzimatica a agenţilor antimicrobieni sub acţiunea enzimelor bacteriene, mai ales a răspândirii beta-lactamazelor cu spectru extins reprezintă o problemă pentru agenţii beta-lactamici (Bush, 1999).

De la introducerea cefalosporinelor de generaţia a treia, aproximativ 15-35% din izolatele de *Enterobacter aerogenes*, *Enterobacter cloacae* şi *Citrobacter freundii* au devenit rezistente la aceşti agenţi (Jones, 1996a).

Programele de supraveghere a rezistenţei au fost iniţiate pentru a stabili *pattern*-ul de sensibilitate la agenţii antimicrobieni şi de a monitoriza amplificarea, transmiterea şi expresia genelor de rezistenţă în diferite populaţii bacteriene.

Meropenemul este un nou antibiotic beta-lactamic, care, ca şi imipenemul se încadrează în grupul carbapenemelor. Acesta diferă de imipenem prin rezistenţă

la enzima renală dihidropeptidaza-I, o metaloenzimă prezentă în celulele tubilor renali la mamifere.

Meropenemul are o activitate foarte bună asupra multor patogeni aerobi şi anaerobi, stabilitate la hidroliza diferitelor clase de beta-lactamaze, afinitate deosebită faţă de proteinele de legare a penicilinelor (Edwards, 1995; Jabes şi Della-Bruna, 1990).

Scopul studiului nostru a fost de a investiga activitatea *in vitro* a meropenemului, comparată cu a altor agenţi antimicrobieni asupra unor enterobacterii, izolate clinice.

Material şi metode

Tulpini bacteriene. Am investigat un număr de 396 izolate clinice de enterobacterii din care: *Escherichia coli* (317), *Klebsiella* spp. (49) si *Enterobacter* spp. (30) obţinute din urină de la pacienţi trataţi în Spitalul Judeţean Galaţi, în perioada 2001-2002.

Bacteriile au fost identificate prin sistemul API 20E, Biomerieux. Ca tulpini pentru controlul de calitate am utilizat *E. coli* ATCC 25922.

Agenti antimicrobieni. Meropenemul provine de la ICI Pharmaceuticals; ceilalti agenti: imipenem, cefotaxim, ceftazidim, ceftroiaxona şi aztreonam au fost obţinuţi din surse comerciale. Concentraţiile duble testate au fost de 0,125-64 mg/L.

Testarea sensibilităţii: Concentraţiile minime inhibitorii (CMI) au fost determinate prin metoda diluţiilor în agar Mueller-Hinton, cu o densitate a inoculului de aproximativ 10^5-10^6 UFC/ml. CMI a fost considerată ca fiind cea mai mică concentraţie care inhibă creşterea microbiană vizibilă. O tulpină a fost considerată sensibilă la meropenem dacă CMI a fost ≤8 mg/L, iar faţă de celelalte antibiotice mai mică sau egală cu breakpoints stabilite de National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS, 2002) (Tabel 1)

Tabel 1. Criteriile de sensibilitate stabilite conform NCCLS 2002 pentru agenţii antimicrobieni incluşi în studiu (mg/l)

Agent antimicrobian	Sensibil	Moderat sau intermediar sensibil	Rezistent
Meropenem	≤8	-	≥16
Imipenem	≤4	8	≥16
Cefotaxim	≤8	16	≥32
Ceftriaxona	≤8	16	≥32
Ceftazidim	≤8	16	≥32
Aztreonam	≤8	16	≥32

Rezultate

Activitatea antimicrobiană a meropenemului comparată cu ceilalţi agenţi antimicrobieni este prezentată în tabelul 2 ca frecvenţe ale procentelor cumulative ale CMI (mg/L). Meropenemul a fost cel mai activ agent asupra enterobacteriilor cu peste 90% din tulpini inhibate de concentraţii ≤ 1mg/L.

Imipenemul are o activitate asemănătoare cu a meropenemului; exceptând *Klebsiella* spp. pentru care am înregistrat un izolat cu valoarea CMI de 8mg/L. Cefotaximul, ceftriaxona şi ceftazidimul au avut activitate similară, acre a fost uşor mai bună decât a aztreonamului. CMI 50 şi CMI 90 pentru meropenem şi imipenem ale tuturor izolatelor testate au fost mult mai mici, comparativ cu breakpoints pentru sensibilitate (Tabel 3).

Cefotaximul, ceftazidimul şi ceftriaxona îşi menţin valorile CMI 90 în limita sensibilităţii doar pentru izolatele de *E. coli.*

Procentele tulpinilor inhibate la anumite concentraţii sunt prezentate în figura 1 a, b, c. Toate izolatele au fost sensibile la meropenem. Imipenemul a fost la fel de eficient, cu excepţia unei tulpini de *Klebsiella* (fig. 1b)

Rezultatele sunt asemănătoare pentru ambele carbapeneme cu majoritatea tulpinilor de *E. coli* şi *Klebsiella* spp. inhibate la concentraţii mai mici sau egale cu 0,25 mg/L. Totuşi, procentul tulpinilor de *Klebsiella* spp. inhibate de concentraţii cuprinse între 0,5-8 mg/L meropenem este mai mic (0,9%) comparativ cu imipenemul (6,6%); 20% din tulpinile de *Enterobacter* spp. sunt inhibate la concentraţii de 0,5-8 mg/L meropenem, respectiv imipenem.

Rezistenţa izolatelor de *E. coli* faţă de cefalosporinele de generaţia a treia se menţin în jurul valorii de 10% (fig. 2a).

Procentele de rezistenţă la cefotaxim şi ceftriaxona sunt aproximativ duble pentru *Klebsiella* spp. (fig. 2b)

Aproximativ jumătate din izolatele de *Enterobacter* sunt rezistente la cefotaxim, ceftriaxona, ceftazidim. Rata de rezistenţă faţă de aztreonam, comparativ cu a cefalosporinelor de generaţia a treia este mai mare (fig. 2c).

Tabel 2. Activitatea meropenemului şi a altor 5 agenţi asupra unor izolate de enterobacterii. Rezultatele sunt exprimate ca frecvenţă a procentelor cumulative a CMI (mg/L)

Tulpini	Agent	Frecvenţa cumulativă a valorilor CMI (mg/L)									
		0,125	0,25	0,5	1	2	4	8	16	32	64
E. coli (317)	MER	60,6	99,1	99,4	99,7	100					
	IMI	54,9	93,4	99,4	99,7	100					
	CTA	5,4	36,6	83,9	86,4	88,9	89,6	91,2	94	94,7	100
	CRO	7,9	32,2	81,4	87,4	87,4	88,3	90,2	94,3	95,3	100
	CAZ	6,9	27,4	81,3	85,8	87,4	88	89,2	91,8	94	100
	AZT		19,9	59,6	79,2	80,12	85,5	85,8	87,7	92,4	100

Klebsiella spp. (49)	MER	40,8	97,9	97,9	100						
	IMI	34,7	93,9	97,9	97,9	97,9	97,9	100			
	CTA	2	20,4	75,5	75,5	79,6	79,6	79,6	89,8	91,8	100
	CRO	6,1	20,4	69,4	77,5	77,5	77,5	77,5	83,7	85,7	100
	CAZ	2	10,2	51	79,6	79,6	79,6	79,6	79,6	81,6	100
	AZT		12,2	57,1	75,5	75,5	75,5	75,5	75,5	79,6	100
Enterobacter spp. (30)	MER	50	80	93,3	93,3	96,7	96,7	100			
	IMI	23,3	80	96,7	96,7	96,7	96,7	100			
	CTA		13,3	33,3	40	40	43,3	46,7	56,6	73,3	100
	CRO		3,3	43,3	43,3	43,3	43,3	50	60	70	100
	CAZ		6,7	33,3	46,7	46,7	46,7	46,7	50	53,3	100
	AZT			30	36,7	36,7	36,7	40	40	43,3	100

Discuții

Studiul asupra activității *in vitro* a meropenemului confirmă activitatea foarte bună asupra enterobacteriilor. Meropenemul şi imipenemul manifestă activitate asemănătoare asupra speciilor investigate. Rezultatele sunt comparabile cu cele comunicate de alți autori (Clarke si Zemcov, 1989; Schito şi colab., 1989; Baurnfeid şi colab., 1989). Activitatea foarte bună a carbapenemelor, asupra enterobacteriilor este dată şi de rezistența deosebită la hidroliza beta-lactamazelor, inclusiv a beta-lactamazelor cu spectru larg şi a cefalosporinazelor cromosomale (Moellering şi colab., 1989; Neu şi colab., 1989).

Beta-lactamazele care au totuşi activitate asupra carbapenemelor sunt metaloenzime produse de *Xanthomonas maltophilia*, *Flavobacterium odoratum*, *Bacillus cereus*, *Legionella gormanii*.

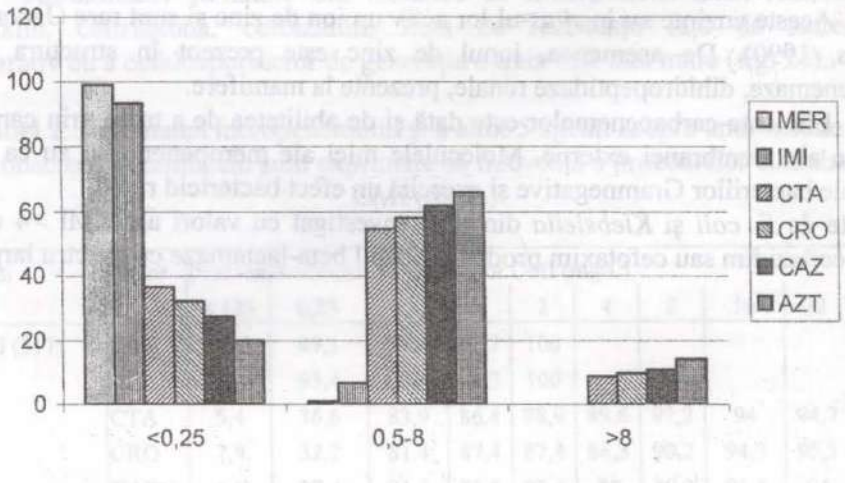
Aceste enzime au in *situs*-ul lor activ un ion de zinc şi sunt rare (Jaconis şi Sanders, 1990). De asemenea, ionul de zinc este prezent în structura unor carbapenemaze, dihidropeptidaze renale, prezente la mamifere.

Eficienta carbapenemelor este dată şi de abilitatea de a trece prin canalele porinice ale membranei externe. Moleculele mici ale meropenemului au ca țintă PBP2 ale bacteriilor Gramnegative şi exercită un efect bactericid rapid.

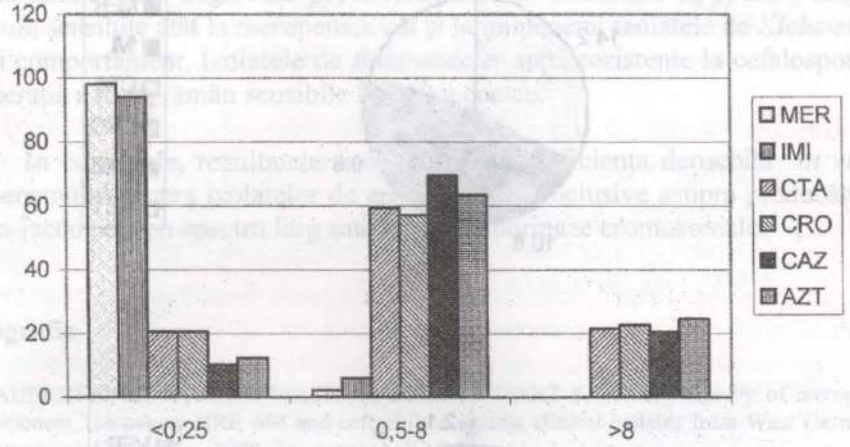
Izolatele de *E. coli* şi *Klebsiella* din lotul investigat cu valori ale CMI >4 mg/L pentru ceftazidim sau cefotaxim produc probabil beta-lactamaze cu spectru larg.

Tabel 3. Activitatea comparativă *in vitro* a meropenemului asupra enterobacteriilor investigate

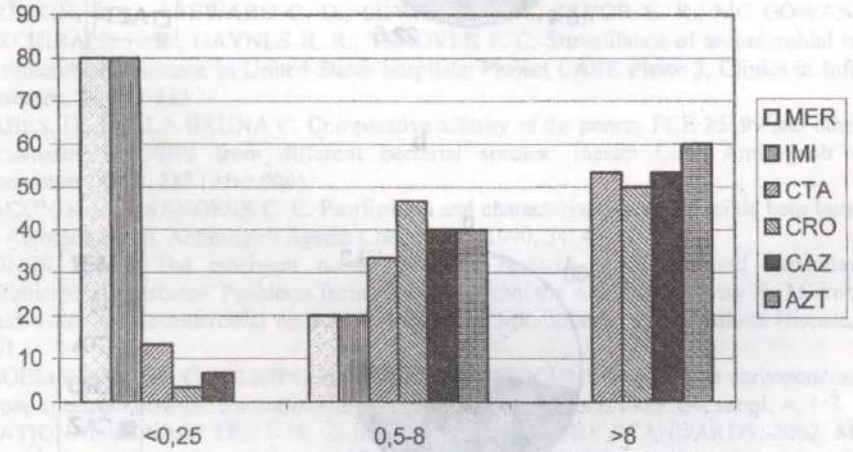
Tulpini	Agent	CMI (mg/L)		
		CMI 50	CMI 90	Limite
E. coli (317)	MER	0,125	0,25	0,125-2
	IMI	0,125	0,25	0,125-2
	CTA	0,25	4	0,125-64
	CRO	0,25	8	0,125-64
	CAZ	0,25	8	0,125-64
	AZT	0,5	32	0,25-64
Klebsiella spp. (49)	MER	0,125	0,25	0,125-1
	IMI	0,125	0,25	0,125-8
	CTA	0,5	16	0,125-64
	CRO	0,5	64	0,125-64
	CAZ	0,5	64	0,125-64
	AZT	0,5	64	0,125-64
Enterobacter spp. (30)	MER	0,125	0,5	0,125-8
	IMI	0,125	0,5	0,125-8
	CTA	8	64	0,25-64
	CRO	8	64	0,25-64
	CAZ	16	64	0,25-64
	AZT	32	64	0,5-64



a

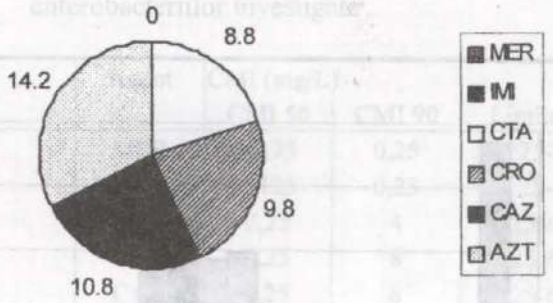


b

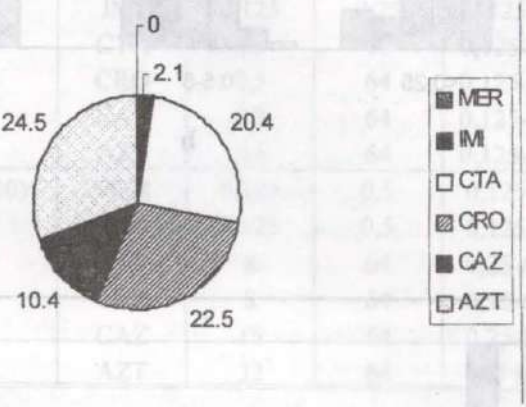


c

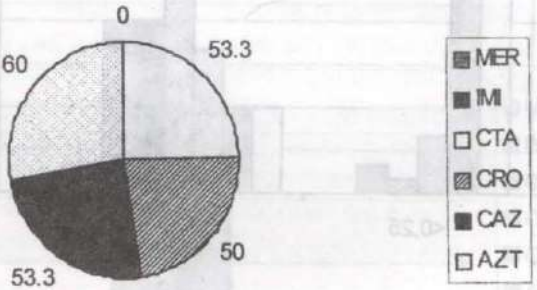
Fig. 1. Comparația rezultatelor activității meropenemului și a altor beta-lactamine asupra izoltelor de *E. coli* (a), *Klebsiella* spp. (b), *Enterobacter* spp. (c).Rezultatele sunt exprimate ca procente de inhibiție a tulpinilor la concentrații fixe de antibiotic.



a



b



c

Fig. 2. Distribuția rezistenței izolatelor de *E. coli* (a), *Klebsiella* spp. (b), *Enterobacter* spp. (c) fata de agenții testați

Izolatele de *Enterobacter* spp., cu valori ale CMI >8 mg/L sunt probabil producători de beta-lactamaze tip 1. Din cele 317 izolate de *E. coli*, aproximativ 11% au fenotip care sugerează producerea de beta-lactamaze cu spectru larg, dar toate sunt sensibile atât la meropenem cât şi la imipenem; izolatele de *Klebsiella* au acelaşi comportament. Izolatele de *Enterobacter* spp., rezistente la cefalosporinele de generaţia a treia, rămân sensibile la carbapeneme.

În concluzie, rezultatele noastre confirmă eficienţa deosebită *in vitro* a meropenemului asupra izolatelor de enterobacterii, inclusive asupra producătorilor de beta-lactamaze cu spectru larg sau de cefalosporinaze cromosomale.

Bibliografie

1. BAUERNFEIND, A., JUNGWIRTH R., SCHWEIGHART S. *In vitro* activity of meropenem, imipenem, the penem HRE 664 and ceftazidime against clinical isolates from West Germany. J Antimicrob Chemother, 1989, 24, suppl. A: 73-84
2. BUSH, K. Beta-lactamases of increasing clinical importance. Current Pharmaceutical Design, 1999, 5, 839-845
3. CLARKE, A. M. ZENICOV S. J. V. *In vitro* activity of meropenem against clinical isolates obtained in Canada. J Antimicrob Chemother, 1989, 24, suppl. A: 47-55
4. EDWARDS, J. R. Meropenem: a microbiological overiew. J Antimicrob Chemother, 1995, 36, suppl A., 1-17
5. FRIDKIN, S. K., STEWARD C. D., EDWARDS J. R., PRYOR E. R., MC GOWAN J. E., ARCHIBALD L. K., GAYNES R. R., TENOVER F. C. Surveillance of antimicrobial use and antimicrobial resistance in United States hospitals: Project CARE Phase 2, Clinics in Infectious Diseases, 29, 245-252
6. JABES, D., DELLA-BRUNA C. Comparative affinity of the penem FCE 25199 and other beta-lactamases for PBPs from different bacterial species. Inersci Conf Antimicrob Agents Chemother, 1990, 237 (Abst 906)
7. JACONIS, J. P., SANDERS C. C. Purification and characterization of inducible beta-lactamases in Aeromonas spp. Antimicrob Agents Chermother, 1990, 34: 44-51
8. JONES, R. N. The emergent needs for basic research, education and surveillance of antimicrobial resistance. Problems facing the report from the American Society for Microbiology Task Force on Antimicrobial resistance. Diagnostic Microbilogy and Infectious Disease, 1996, 161
9. MOELLERING, R. C., ELIOPOULOS G. M., SENTOCHNIK D. E. The carbapenems: New broad spectrum beta-lactam antibiotics. J Antimicrob Chemother, 1989, 24, suppl. A, 1-7
10. NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS, 2002. Methods for dilution antimicrobial tests for bacteria that grow aerobically. Approved Standard M7-A5. National Committee for Clinical Laboratory Standard, Wayne, P. A.
11. NEU, H. C., NOVELLI A., CHIN N. *In vitro* activity and beta-lactamase stability of a new carbapenem SM-7338. Antimicrob Agents Chemother, 1989, 33:1009-18
12. SCHITO G. C., SANNA A. CHEZZI C., RAVIZZOLA G, LEONE F., MOLINARI G, MENOZZI M. G, PIRALI F. *In vitro* activity of meropenem against clinical isolates in a multicentre study in Italy. J Antimicrob Chemother, 1989, 24, suppl, A, 57

EFECTE DE TIP IMUNOMODULATOR ALE CHIMIOTERAPICELOR

Cătălina-Elena Lupuşoru, Cristina Mihaela Ghiciuc, Ioana Maria Antonesi
Catedra de Farmacologie-Toxicologie, Facultatea de Medicină, UMF, Iaşi, România

Abstract
Drugs with various indications can stimulate or inhibit the activity of immune system components. Even most of them are not indicated in immunotherapy; their effects on immune system must be known.
According to their immunomodulatory effects, chemotherapics are classified in four groups:

- Chemotherapics which don't influence the defense mechanisms of host body;
- Chemotherapics which determine an *in vivo* and/or *in vitro* depression of the immune functions;
- Chemotherapics that act synergic with immune system activity;
- Chemotherapics that increase the immune functions both in healthy persons and in immune diseases.

Chemotherapics can induce multiple effects on immune system: direct cytotoxic effects on lymphocytes T and B, the cover of lymphocyte receptors that recognize the antibodies, the influence of lymphocyte T activity, the increase of phytohemaglutinine-induced proliferate response, interaction with free radicals released from neutrophils, disturbances of oxidative mechanisms of phagocyte cells by inhibition of mieloperoxidases, inhibition of the antigen-induced TNFα production from monocytes, decrease of phagocytes motility and chemotaxis.
It is important to know the immunomodulatory effects of chemotherapics for the right decision of therapeutically schedules in different infections, which don't influence or may depress the immune system.

Modificatorii răspunsului biologic (BRM) constituie noi perspective de tratament în infecţii. Conform criteriilor BRM (citaţi în literatura de Talmadge, Oldham şi Fidler, 1984), aceste substanţe nu deprimă factorii apărării naturale *in vitro*, *ex vivo* sau *in vivo*, cresc efectele bactericide ale componentelor celulare şi umorale ale apărării imunitare, scad virulenţa bacteriilor şi/sau cresc sensibilitatea lor la mecanismele bactericide naturale şi restabilesc imunocompetenţa gazdelor

imunocompromise pentru clearance-ul bacterian.

În funcție de efectele de tip imunomodulator, chimioterapicele se clasifică în urmatoarele grupe (Labro M.T. şi colab., 1990):

1) chimioterapice care ***nu modifică mecanismele de apărare ale gazdei***: peniciline naturale şi de semisinteză, aminoglicozidele în doze obişnuite, Fluconazol;

2) chimioterapice care ***deprimă funcțiile imune*** *in vitro* şi/sau *ex vivo*: tetracicline, Rifampicină, Eritromicină, Cloramfenicol, sulfonamide, Miconazol, Ketoconazol, Itraconazol;

3) chimioterapice care ***acționează sinergic cu sistemul imunitar***: chinolone;

4) chimioterapice care ***determină creşterea intensității funcției imune***, atât la indivizii sănătoşi, cât şi la pacienții imunocompromişi (cresc sau refac mecanismele apărării imune deteriorate, cresc răspunsul gazdei la vaccinuri şi la agenții chimioterapeutici, îndeplinind criteriile BRM): macrolide (numai Roxitromicina, Azitromicina, Claritromicina), cefalosporine, Amfotericina B.

1. Efecte imunomodulatoare ale chimioterapicelor antimicrobiene

1.1. Penicilinele naturale şi de semisinteză ***nu influențează componentele sistemului imun***, cu excepția reacțiilor alergice de tip I, mediate de IgE sau a reactiilor de tip III mediate de IgG.

1.2. Cefalosporinele determină ***efecte de tip imunomodulator***.

Studiile privind efectele asupra sistemului imunitar s-au realizat în special pentru cefalosporine de generația a III-a (Cefotaxime).

În primul rând s-a evidențiat stimularea mecanismelor naturale de apărare antibacteriană. Experimental, la animale de laborator infectate cu *Candida albicans* sau *T. Gondii*, s-a demonstrat că acest efect este mai intens în special la organismele imunocompromise. Totodată s-au pus în evidență scăderea virulenței diferitelor specii bacteriene şi creşterea sensibilității acestora la acțiunea fagocitelor sau a complementului seric, precum şi stimularea *ex vivo* a funcțiilor fagocitelor şi ale limfocitelor la voluntarii umani sănătoşi şi refacerea diverşilor parametri imunitari la animalele imunocompromise sau la pacienții imunocompromişi. Stimularea activității fagocitelor a fost obținută atât *ex vivo* şi *in vitro* la animale de laborator (mai puțin la unele tulpini de şoareci) şi la oameni cu sistemul imun normal, cât şi la animale sau persoane imunocompromise. S-a constatat că răspunsurile limfocitelor B (LyB), dar nu şi cele ale limfocitelor T (LyT) sunt crescute numai *ex vivo*, nu şi *in vitro*, şi depind de tulpina de şoarece. Proliferarea *in vitro* a limfocitelor depinde de linia celulară utilizată în experimente, iar funcțiile specifice ale acestora sunt evident stimulate la oameni şi la animale de laborator imunocompromise, dar nu şi la oameni şi animale sănătoase. La concentrații subinhibitorii, cefalosporinele determină creşterea sensibilității agenților patogeni față de acțiunea fagocitelor, prin stimularea metabolismului lor oxidativ (aceasta ar

putea fi consecinţa alterării structurale a bacteriilor, cu expunerea neoantigenelor sau a situsurilor complementului).

Unele cefalosporine (Cefpimizole) eliberează din macrofage mediatori care stimulează neutrofilele, în timp ce la altele (Cefotaxime) „primează" răspunsul oxidativ al neutrofilelor umane la un stimul secundar (atunci când particulele sunt opsonizate de către fracţiile C_{3b} ale complementului seric). Cefotaxima determină creşterea producţiei de IL-1 şi scăderea sensibilităţii limfocitelor la PGE_2 (factor supresor imunitar). Experimental s-a demonstrat că Cefotaxima reface „competenţa" bactericidă a modelelor animale imunocompromise şi infectate experimental.

Discrepanţa între datele *in vitro* şi *in vivo* susţine ipoteza că după administrarea de cefalosporine sunt eliberaţi mediatori solubili.

1.3. Macrolidele determină multiple ***efecte imunomodulatoare***. Concentrarea puternică în celulele gazdei explică activitatea macrolidelor faţă de patogenii intracelulari şi contribuie la modularea metabolismului şi funcţiilor acestor celule.

Transportul transmembranar al macrolidelor este similar cu cel al glicoproteinelor P, care explică rezistenţa multiplă la medicamente (MDR: multiple drug resistance), precum şi cu cel al reglatorilor conductanţei transmembranare în fibrozele chistice (implicaţi în geneza acestora).

Experimental s-a demonstrat că macrolidele inhibă în mod specific leziunile pulmonare induse de complexele imune (conţinând IgG), probabil prin inhibarea eliberării de citokine, ceea ce determină fenomenul de „down"- reglare a exprimării genei NO-sintetazei inductibile şi a producţiei de NO de către macrofagele alveolare pulmonare de şobolan, Totodată determină reducerea eliberării indusă de complexele imune (conţinând IgG) a IL - 1β şi a TNFα, precum şi inhibarea creşterii numărului şi acumulării de PMN în spaţiile alveolare.

Macrolidele determină ***efecte antiinflamatorii*** *in vitro*, pe modele animale şi în unele situaţii clinice, cum ar fi panbronşiolita difuză. Mecanismele moleculare implicate în această situaţie constau în „down"- reglarea producţiei de citokine proinflamatoare şi a producţiei de radicali liberi de către fagocite.

1.3.1. Eritromicina maschează receptorii limfocitari pentru recunoaşterea Ag şi determină scăderea activităţii stimulatoare a LyTh. *Efectele imunomodulatoare ale Eritromicinei nu prezintă legătură cu efectele antimicrobiene.*

Asociată cu un vaccin ADN conţinând fracţiuni nemetilate CpG, Eritromicina determină creşterea răspunsului imun prin: creşterea Ag-specifică a producţiei de IgG2a şi a producţiei de IFNγ de către LyT CD4+, precum şi a răspunsurilor LyT citotoxice şi creşterea activităţii celulelor accesorii, a celulelor prezentatoare de Ag. După stimularea celulelor cu LPS bacterian, Eritromicina determină stimularea sintezei de IL-6 în monocitele umane, dar nu şi sinteza de IL-1 şi TNFα.

Eritromicina determină ***efecte antiinflamatoare*** prin mecanisme translaţionale şi posttranslaţionale. Dozele mici de Eritromicină sunt eficiente în tratamentul sinuzitelor cronice incurabile prin tratament chirurgical sau cu glucocorticosteroizi [60 – 80 % ameliorare a simptomelor] (Cervin A, 2001).

Pe modele animale, macrolidele au determinat creşterea transportului mucociliar, au redus secreţia totală a celulelor şi au accelerat apoptoza neutrofilelor, ceea ce a avut ca rezultat reducerea inflamaţiei cronice. Eritromicina determină inhibarea expresiei genei pentru IL-6 şi IL-8 şi expresiei moleculei de adeziune intercelulară esenţială pentru recrutarea celulelor inflamatorii, precum şi reducerea virulenţei şi leziunilor tisulare determinate de colonizarea bacteriană cronică, fără ca infecţia bacteriană să fie eradicată (implicarea „down"– reglării răspunsului imun local, realizându-se o scădere gradată a virulenţei bacteriei colonizatoare). O doză clinică relevantă de Eritromicină, administrată perfuzabil, la voluntari sănătoşi, demonstrează că acest chimioterapic determină *scăderea producţiei de chemokine din grupul CXC:* IL-8 şi atractantul neutrofil derivat din celulele epiteliale (ENA-78), în sânge total stimulat *ex vivo* cu *S. pneumoniae* omorât prin căldură, dar determină *creşterea degranulării neutrofilului* şi a eliberării produselor degranulării neutrofilului: proteina bactericidă/ permeabilizantă (BPI), elastaza neutrofilică umană (HNE), lactoferina umană (HLF). Macrolidele inhibă producţia de IL-8 de către neutrofilele stimulate cu *Pseudomonas*, dar nu şi pe cea produsă de macrofagele alveolare (nu este cunoscut efectul macrolidelor asupra producţiei de chemokine indusă de germeni Gram pozitivi). Eritromicina induce degranularea neutrofilelor *in vitro*. A 14-a componentă a inelului macrolidic determină creşterea exocitozei neutrofilice, efectul macrolidelor asupra degranulării neutrofilului fiind dependent de prezenţa cladinosei în poziţia „3" a inelului lactonic. Experimental s-a demonstrat că tratamentul cu anti-MIP-2 a redus influxul neutrofilelor şi a afectat apărarea gazdei la şoareci infectaţi cu *K. pneumoniae. Inhibiţia indusă de Eritromicină asupra producţiei de chemokine CXC, poate fi considerată un efect secundar nedorit al acestui antibiotic.*

Eritromicina administrată în ***doze reduse, pe termen lung***, determină următoarele ***efecte imunomodulatoare:*** scade producţia de TNFα, scade producţia chemoatractanţilor neutrofilici induşi de citockine: CINC-1 (la şobolan, analog la om cu IL-8) şi CINC-2α (la şobolan, analog la om cu MIP-2), reduce producţia şi secreţia de citokine (după tratament cu LPS, la animale de laborator).

1.3.2. Roxitromicina reface activitatea fagocitară a PMN şi efectele bactericide ale acestora, la pacienţi imunodeprimaţi, reface exprimarea CD 11b la suprafaţa PMN. Experimental s-a demonstrat că Roxitromicina suprimă edemul indus experimental prin injectarea s.c. de carrageenan în laba de şobolan (obţinându-se efecte cel puţin egale cu acelea obţinute cu antiinflamatorul nesteroidian Nimesulide).

1.3.3. Azitromicina şi Claritromicina determină efecte antiinflamatoare mult mai slabe decât Roxitromicina, dar prezintă proprietăţi farmacocinetice mult mai bune decât aceasta. Aceste macrolide pot influenţa benefic sistemul imun, în

special la indivizii imunocompromişi. În macrofagele alveolare realizează concentraţii eficiente. Determină creşterea producţiei de IL-8 de către neutrofilele umane *in vivo* şi suprimă producţia de IL-8 de către macrofagele alveolare umane; în schimb, PMN în sânge total nu stimulează producţia de IL-8 *ex vivo*.

Azitromicina şi Claritromicina sunt eficiente în tratamentul infecţiilor micobacteriene netuberculoase, incluzând cele cu *M. avium*, prin modularea producţiei de IL-8, ceea ce are drept rezultat modularea acumulării de neutrofile şi de alte celule inflamatoare care este benefică pentru gazdă, acestea prezentând o activitate micobactericidă.

Studiile realizate asupra Claritromicinei au demonstrat că aceasta inhibă producţia de IL-1β, IL-6, IL-8, G-CSF, GM-CSF (în focarul inflamator), efectul asupra citokinelor fiind dependent de doza/concentraţia de antibiotic. În sinuzitele cronice, Claritromicina determină scăderea expresiei genelor pentru citokinela proinflamatorii şi a moleculelor de adeziune din mucoasa sinuzală. Claritromicina inhibă proliferarea LyT şi stimulează fagocitoza. Experimental s-a constatat că determină creşterea numărului splenocitelor formatoare de plaje de hemoliză, dependent de doză (la doza de 250 mg/kgcorp, şoareci femele B6 C3 F1), dar la aceeaşi doză sau mai mare (500 mg/kg corp/zi), nu influenţează celulele NK sau LyTc. Claritromicina suprimă producţia de IL-8 de către celulele epiteliului bronşic uman, dar nu este citotoxică pentru aceste celule.

1.4. Cloramfenicolul determină efecte citotoxice directe asupra LyT şi a LyB, exacerbarea activităţii frenatoare a LyTs, mascarea receptorilor celulei ţintă pentru celulele NK activate şi inhibarea citotoxicităţii naturale a celulelor NK, scăderea/inhibarea motilităţii şi a chemotaxiei celulelor fagocitare prin mecanisme moleculare neelucidate.

1.5. Chinolonele de generaţia a III-a (Ciprofloxacin) determină ***efecte antiinflamatoare şi imunosupresoare*** prin reducerea eliberării radicalilor liberi de oxigen de către neutrofile, scăderea acumulării IL-6 şi scăderea producţiei de TNF , IL-1, IL-6, PGE2.

1.6. Tetraciclinele determină efecte citotoxice directe asupra LyT şi a LyB, determină scăderea/inhibarea motilităţii şi a chemotaxiei celulelor fagocitare, prin mecanisme moleculare încă neelucidate. Tetraciclinele determină ***efecte antiinflamatoare*** (inhibă migrarea fagocitelor în focarul inflamator) şi ***neuroprotectoare***, inhibă metaloproteinazele şi modulează activitatea COX, inhibă eliberarea radicalilor liberi de către PMN, inhibă NOS şi nitrarea tirozinei de către peroxinitrit (ceea ce asigură protecţia împotriva ischemiei cerebrale). Tetraciclinele blochează funcţiile macrofagelor prin inhibarea chemotaxiei, blocarea producţiei de IL-1, IFNγ, TNFα, scăzând intensitatea simptomelor în colagenoze.

1.7. Sulfonamidele determină deteriorarea mecanismelor oxidative ale celulelor fagocitare, prin inhibarea micloperoxidazelor.

Asocierea sulfonamide cu Trimetoprim (***Bactrim***®) reduce nivelurile crescute de IL - 6 şi IL–2 RS din afecţiunile inflamatorii.

1.8. Aminoglicozidele determină potenţarea răspunsului proliferativ PHA – indus al limfocitelor.

1.8.1. Gentamicina determină scăderea activării oxidărilor NADPH în neutrofile.

1.8.2. Streptomicina în doze mari determină efecte citotoxice directe asupra LyT şi a LyB.

1.9. Isoniazida (HIN) în scheme terapeutice de lungă durată, induce fenomene autoimune, de tip LES.

2. Efecte imunomodulatoare ale chimioterapicelor antiparazitare

Dintre chimioterapicele antiparazitare, ***Metronidazolul*** interferă cu eliberarea radicalilor liberi de oxigen.

3. Efecte imunomodulatoare ale chimioterapicelor antifungice

Administrarea de ***Fluconazol*** nu influenţează apărarea imunitară la organismele sănătoase sau imunocompromise. În schimb, administrarea de ***Miconazol***, ***Ketoconazol*** sau ***Itraconazol*** diminuează funcţiile LyT şi deprimă funcţiile PMN umane.

Administrarea de ***Amfotericină B*** determină efecte imunostimulatoare neselective.

În concluzie, se poate afirma că, alegerea tratamentului chimioterapic trebuie să ţină cont de efectele stimulante sau inhibitorii ale acestuia asupra sistemului imun. Administrarea îndelungată a unui tratament chimioterapic poate determina deprimarea unor componente ale sistemului imun, de aceea la pacienţii imunocompromişi este de preferat să se administreze antibiotice care determină efect imunomodulator.

Bibliografie selectivă

1. DALE M. MAUREEN, FOREMAN C. J., TAI-PING D. "Textbook of Immunopharmacology", Third ed., Blackwell Scientific Publications, Oxford, 1994, pp. 335-339
2. KAGURUGAMUWA J.L., ANWAR H., BROWN M.R.W. " Protein Antigen of Encapsulated K. Pneumoniae Surface Exposed after Growth in the presence of Subinhibitory Concentrations of Cephalosporins", Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 28, pp. 195-199
3. LABRO M.T., BABIN-CHEVAYE C., HAKIM J. " Cefodizime (HR-221) Potentiation of

Human Neutrophil Bactericidal Function", J. of Antimicrobial Chemotherapy, 19, pp. 331-341
4. LABRO M.T.,FOCHET I., BABIN-CHEVAYE C., HAKIM J. " Effects of Cefotaxime and Cefodizime on Human Granulocyte Functions *in vitro*, J. of Antimicrobial Chemotherapy, 18, pp. 223-237
5. LABRO M.T." Cefodizime as a biological response modifier: a review of its *in vivo, ex vivo* and *in vitro* immunomodulatory properties", J. of Antimicrobial Chemotherapy, 26, pp. suppl. C., pp.37-47
6. LIU J., MENGEL K., FRIEDBERG K.D. *In vivo* effects of Fluconazole on Lymphocyte Subpolulation of the Thymus and Spleen in mice: flow cytometry analysis, Int. J. of Immunopharmac., vol.18, nr8/9, pp. 449-457
7. LUPUSORU C.E. "Imunofarmacologie", Ed. Alfa, Iasi, 2001, pp. 290-292
8. TAKESHI N., HAYASHI M., YOSHIZAYA I., AOKI K. "A comparative Investigation of the Restorative Effects of Roxithromycin on Neutrophil Activities" , Int. J. of Immunopharmac., vol.20, nr. 11, pp. 615-624
9. UNGUREANU G.,COVIC M. "Terapeutica medicala", Ed. Polirom, Iasi, 2000, pp. 542-560, 565-572

IMPLICAȚII CLINICE ALE POLIMORFISMULUI GENETIC ÎN METABOLIZAREA CHIMIOTERAPICELOR

Cristina Mihaela Ghiciuc, Cătălina-Elena Lupuşoru, Ioana Maria Antonesi
Catedra de Farmacologie-Toxicologie-Algeziologie, Facultatea de Medicină, UMF, Iaşi, România

Abstract
The variations of response after administration of a drug may be explained by the influence of many factors such as pharmaceutical formulation, biological factors or drug interactions.
A special importance is given to the genetic particularities that may explain the increase or the decrease of the response intensity of a drug. A very well known is the polymorphism of N-acetyltrasferases, enzyme with a genetic polymorphism that group the population in slow and rapid acetylators, so that explain the toxic effects after the administration of therapeutic doses of Isoniazid in slow acetilators.
Researches in this field try to determine the clinical consequences of the metabolism of drugs under the action of different members of cytocrome P450 superfamily. A particular direction of research is to identify the pharmacogenetic abnormalities that, without an influence of the normal individual life, may determine an abnormal response (called idiosyncrasy) after the administration of a certain drug.
In this context, it came up the problem of the clinical consequences of the associations in which an important group of substances used in the medical practice is involved, chemotherapy drugs, especially due to pharmacokinetic interactions (induction and inhibition of metabolism).
The knowledge of the particularities of metabolism in the situation of administration of drugs may be useful for the optimization of drug therapy.

Introducere

Un medicament, o dată ce a fost administrat, este absorbit şi distribuit la locul său de acțiune, iar ulterior este supus metabolizării şi este eliminat. Variațiile răspunsului după administrarea unui medicament pot fi explicate printr-o multitudine de factori reprezentați de forma farmaceutică, factori biologici sau interacțiuni medicamentoase (Weinshilboum, 2003). Metabolizarea medicamentelor poate fi supusă variațiilor datorate polimorfismului genetic,

fenomenelor de inducție sau inhibiție enzimatică cauzate de administrarea concomitentă de medicamente sau factorilor de mediu, anumitor stări fiziologice sau patologice ale organismului. (Ingelman, 2001)

Primele observații clinice privind particularități ale răspunsului terapeutic, au fost notate după administrarea succinilcolinei sau a izoniazidei, ceea ce a dus la concluzia existenței, la unii pacienți, de concentrații plasmatice foarte mari sau foarte mici de medicament. Cercetările în vederea identificării sursei acestor variații la nivel biochimic au demonstrat caracterul înnăscut al acestor modificări. Ulterior s-au identificat genele care codifică proteinele sistemelor enzimatice, precum și secvențele de ADN care sunt răspuntătoare de aceste variații. (Weinshilboum, 2003)

Până în prezent există, în literatura de specialitate, date privind polimorfismul genetic al enzimelor implicate în metabolizare și importanța clinică a acestor particularități genetice, ceea ce ar putea explica creșterea sau scăderea intensității răspunsului la un anumit medicament sau riscul de apariție a unei neoplazii. Cercetările în acest domeniu continuă în direcția caracterizării diferențelor răspunsului clinic după administrarea unui medicament (Dorne, 2003), iar din 1996 a început un proiect privind strângerea de informații asupra legăturii dintre polimorfismul genetic al enzimelor metabolizatoare și riscul apariției de neoplazii (Garte, 2001). O direcție particulară de cercetare o constituie identificarea anomaliilor farmacogenetice care, fără a afecta viața individului, pot declanșa un răspuns anormal (numit idiosincrazie) după administrarea unui anumit medicament. (Chowdry, 1999)

Polimorfismul genetic al sistemelor enzimatice metabolizatoare

Există peste 30 de familii de enzime metabolizatoare, multe dintre acestea fiind supuse polimorfismului genetic, ceea ce explică diferențele individuale în metabolizarea substanțelor. (FDA, 2000) Cunoașterea bazei moleculare a inducției citocromului P 450 pentru medicamente ca rifampicina a reprezentat un progres important privind metabolizarea medicamentelor. (Ingelman, 2001) Marea majoritate a datelor privind polimorfismul genetic al enzimelor metabolizatoare au fost obținute prin reacția de polimerizare în lanț (polymerase chain reaction).

În funcție de activitatea enzimelor metabolizatoare, populația se împarte în metabolizatori de tip lent, metabolizatori rapizi și metabolizatori intermediari. S-a descris pentru glutation S-transferaze existența și a metabolizatorilor ultrarapizi. (Mc Lellan, 1997)

Pentru mulți dintre compușii cunoscuți, modalitatea cea mai frecventă de biotransformare prin reacții de fază I este oxidarea, catalizată în principal de ***sistemul enzimatic microsomal*** localizat la nivelul reticulului endoplasmic hepatic, dar și în alte țesuturi cum ar fi plămâni, rinichi, tractul gastrointestinal, placenta etc. Acest sistem prezintă o mare plasticitate adaptativă, răspunzând la creșterile substratului natural sau exogen prin creșterea masivă a cantității componentelor, prin proliferarea reticulului endoplasmatic cu consecințe importante asupra vitezei oxidării compușilor respectivi (inducție enzimatică etc). (Voicu, 1999) Evaluarea mecanismelor de metabolizare pentru un număr de peste 315 medicamente a

demonstrat că 56% din acestea sunt metabolizate în prima etapă la nivelul sistemului enzimatic al citocromului P450 (Ingelman, 2001, Flockhart, 2002). Chimioterapicele care sunt substraturi, inductori sau inhibitori ai izoformelor citocromului P450 sunt prezentate în tabelul 1.

Tabel 1: Chimioterapice care sunt substraturi, inductori sau inhibitori ai izoformelor citocromului P450

	SUBSTRATURI	INHIBITORI (Ki)	INDUCTORI
1A1			albendazol, tiabendazol, oxbendazol, cambendazol, fenbendazol
1A2		fluoroquinolones interferon?	nafcillină?
2C19	nelfinavir proguanil ciclofosfamida tenipozid	ketoconazol, fluconazol ritonavir	Rifampicină
2C9	sulfamethoxazole	izoniazidă sulfaphenazole ? trimetoprim fluconazol, itraconatol ritonavir metronidazol tenipozid	Rifampicină
2D6	debrisoquina	doxorubicina? ritonavir halofantrine	rifampicină?
2E1			Izoniazidă
3A4,5,7	Macrolide (claritromicina, eritromicina (nu şi pe 3A5), cu excepţia azitromicinei) Antivirale HIV (indinavir, nelfinavir, ritonavir, saquinavir) quinine Antineoplazice (cyclosporine tacrolimus (FK506) ciclofosfamida, ifosfamida vincristine, vinblastina, vindesina, etoposid, tenipozid)	Macrolide (claritromicina, eritromicina, nu azitromicina) Chinolone (ciprofloxacin, norfloxacin) Antivirale HIV (delaviridine, indinavir, nelfinavir, ritonavir, saquinavir) Antifungice (fluconazol, ketoconazol, itraconazole)	rifampin Antivirale HIV (efavirenz, nevirapine)

Oxidarea se poate realiza şi la nivelul altor sisteme enzimatice: ***monooxigenaze cu structură flavonodă (FMO)*** cu rol în oxidarea compuşilor cu un atom de sulf sau azot în moleculă, ***monoaminoxidaze (MAO)*** cu rol în oxidarea aminelor etc.

➢ **Polimorfismul citocromilor P450**

Evaluarea metabolizării medicamentelor la nivelul citocromilor P450 a demonstrat că cea mai importantă izoformă este Cyp3A4 (50% din cantitatea de citocromi), urmată de Cyp2D6 (20%), Cyp2C19 (15%), restul fiind Cyp2E1, Cyp2A6, Cyp1A2 şi alte izoforme. Toate aceste izoforme sunt inductibile, cu excepţia Cyp2D6. (Ingelman, 2001)

Pentru multe din izoformele citocromului P450 au fost descrise mutaţii ale genelor care dau variante de alele: Cyp 2A6, Cyp 2C19, Cyp 2C9, Cyp 2D6, Cyp2E1, Cyp1A1, cel mai recent fiind descris polimorfismul Cyp3A4 (Felix, 1998). Doar pentru unele variante genetice au fost descrise consecinţele clinice şi/sau frecvenţa în populaţie. Nu sunt încă date privind efectele clinice ale deficitului enzimatic în cazul Cyp2C19, Cyp2E1 şi Cyp1A1.

Studierea polimorfismului genetic a arătat că există o frecvenţă crescută a unor genotipuri în anumite populaţii etnice. Astfel, 5-10% din populaţia de tip caucazian este metabolizatoare de tip lent pentru substraturile izoformei Cyp2D6 comparativ cu 1-2% în populaţia din Asia. În schimb, incidenţa metabolizatorilor de tip lent pentru substraturile Cyp2C19 este de 18-22% în populaţia din Asia, dar de numai 2-6% în populaţia de tip caucazian. Pentru Cyp2C9 există 1-3% metabolizatori de tip lent în populaţia caucaziană (FDA, 2000). Pentru Cyp2D6 a fost descrisă şi existenţa de metabolizatori ultrarapizi. (Chang, 1999)

➢ **Polimorfismul monooxigenazelor cu structură flavonoidă**

În cadrul monooxigenazelor cu structură flavonoidă au fost cararacterizate structural cinci tipuri diferite: FMO_1, FMO_2, FMO_3, FMO_4 şi FMO_5. (Lohr, 1998)

Biotransformarea medicamentelor prin reacţii de conjugare, reacţii de fază II, duce la obţinerea de compuşi hidrosolubili, inactivi toxodinamic şi eliminabili pe cale urinară. Doar pentru o parte dintre aceste enzime a fost descris polimorfism genetic.

➢ **Polimorfismul metiltransferazelor**

Metiltransferazele şi coenzimele respective, de tipul ***S-adenozilmetionină (SAM)***, catalizează metilarea compuşilor sulfhidril. Există trei tipuri de enzime implicate în metilare: tiol-metil-transferazele microzomale (TMT), tio-eter-S-metil-transferazele citoplasmatice (TEMT), tiopurin-transferazele solubile (TPMT). Dintre aceste enzime, pentru TPMT a fost descris polimorfism genetic: 89% din populaţie este rapid metabolizatoare, 11% din populaţie prezintă activitate metabolizatoare intermediară, iar restul de 1% sunt metabolizatori de tip lent. (Lohr, 1998)

➢ **Polimorfismul acetiltransferazelor**

N-acetiltransferaza (NAT) şi ***acetil coenzima A*** catalizează acetilarea,

reacţie care implică transferul grupărilor acetil la nivelul aminelor aromatice, hidrazinelor, compuşilor sulfataţi (sulfonamidele, Dapsona) şi al unor amine primare alifatice. În anumite cazuri (cazul izoniazidei) acetilarea scade hidrosolubilitatea şi creşte toxicitatea. Studii asupra structurii acetiltransferazelor au demonstrat existenţa a două izoforme NAT_1 şi NAT_2. NAT_1 prezintă polimorfism minor asociat cu acetilarea p-aminobenzoatului şi p-aminosalicilatului, iar NAT_2 prezintă polimorfism tipic asociat cu N-acetilarea izoniazidei – sulfametazinei. Studii asupra activităţii NAT au atribuit polimorfismului formele de acetilatori rapizi de tip homozigot, acetilatori lenţi de tip homozigot şi acetilatori intermediari de tip heterozigot. (Lohr, 1998)

➢ **Polimorfismul glutationtransferazelor**

Glutation S-transferazele (GST) catalizează conjugarea cu glutation, rezultând glutation-conjugaţii care se clivează sub acţiunea gama glutamil transpeptidazei şi se acetilează formând derivaţi N-acetilcisteinici (acizi mercapturici ai toxicelor), care sunt rapid eliminaţi. Acest grup de enzime cuprinde şase clase notate alfa, miu, pi, sigma, delta şi kappa. La $GSTM_1$, unul din membrii clasei GST miu, s-au descris polimorfism genetic, existând trei alele diferite: $GSTM_1A$, $GSTM_1B$ şi $GSTM_1O$. Studiile efectuate de McLellan şi colab. (1997) au pus în evidenţă existenţa de genotip homozigot la 56% din populaţia generală, dintre aceştia 3% prezintând fenotip de metabolizator ultrarapid.

Consecinţele clinice ale polimorfismului genetic al sistemelor enzimatice metabolizatoare ale chimioterapicelor

Necesitatea unei anumite doze, eficienţa tratamentului şi riscul de efecte adverse sunt legate de profilul genetic care determină fenotipul de metabolizator lent sau rapid. (Alvan, 2001) Totuşi deficitul sau lipsa de activitate a unei enzime metabolizatoare nu este întotdeauna evidentă clinic deoarece medicamentele pot fi metabolizate la nivelul mai multor sisteme enzimatice (Evans, 2003).

1. **Consecinţe clinice ale polimorfismului genetic pentru chimioterapicele antimicrobiene**

Pentru multe medicamente nu există diferenţe semnificative între biotransformatea unui medicament la persoanele lent sau rapid metabolizatoare deoarece există concomitent mai multe cai de metabolizare. Astfel, în cazul Tolterodin, antimuscarinic folosit în tratamentul incontinenţei urinare, metabolizarea se realizează în principal la nivelul Cyp2D6, dar în mică măsură se realizează şi la nivelul Cyp3A. La persoanele cu deficit în activitatea enzimatică a Cyp2D6, principala cale de metabolizare devine Cyp3A. Acest aspect este important practic, deoarece administrarea la aceste persoane de inhibitori enzimatici ai Cyp3A, de exemplu Ketoconazol, determină creşteri semnificative ale concentraţiei plasmatice de medicament. (Brynne, 1999)

Rezultate foarte bune în terapia de eradicare a ulcerului cu Helicobacter pylori s-au obţinut după administrarea de Amoxicilină şi Omeprazol la persoane cu deficit al activităţii Cyp2C19. Adăugarea de Claritromicină creşte eficienţa tratamentului doar la persoane metabolizatori rapizi şi intermediari, dar nu are efect la metabolizatorii lenţi. Practic, prin identificarea genotipului de metabolizator

Cyp2C19 lent se poate creşte complianţa la tratament şi scădea costul tratamentului prin administrarea unui regim medicamentos simplu (Amoxicilină şi Omeprazol). (Roden, 2001)

În cazul sulfonamidelor, la pacienţii acetilatori lenţi s-a descris creşterea riscului de reacţii de hipersensibilizare, a apariţiei sindromului Stevens-Johnson şi a necrolizei epidermice toxice. (Furet, 2002)

Rifampicina este inductor foarte puternic al Cyp3A4, puternic al Cyp2C8, moderat al Cyp2C9, neavând efect pe Cyp2C18. Totodată este şi inductor pentru FMO_4, FMO_5 şi MAO_B, dar şi pentru enzime implicate în faza a II-a de metabolizare a medicamentelor: GST şi uridindifosfat glucuroniltransferaza (UGT-1A). Deci Rifampicina este inductor pentru enzime din ambele faze de metabolizare a medicamentelor, ceea ce are consecimţe clinice în cazul asocierilor medicamentoase. (Rae, 2001) Deşi acţionează asupra unor enzime care prezintă polimorfism genetic, nu s-au descris diferenţe clinice datorate polimorfismului. (Paine, 2002)

În cazul Izoniazidei, polimorfismul N-acetiltransferazei explică apariţia semnelor de toxicitate (neuropatia periferică) după administrarea de doze terapeutice de izoniazidă la acetilatorii lenţi. (Lupuşoru, 1994) De asemenea, la aceşti pacienţi creşte riscul de apariţie a lupusului eritematos sistemic. (Furet, 2002)

Pacienţii acetilatori lenţi trataţi cu Dapsonă prezintă risc crescut de apariţie a anemiei hemolitice. (Furet, 2002)

2. Consecinţe clinice ale polimorfismului genetic pentru chimioterapicele antiparazitare

În cazul Debrisoquin existenţa de metaboliţi lenţi pentru Cyp2D6 explică frecvenţa crescută a reacţiilor adverse datorate insuficientei metabolizări a medicamentului. Pe de altă parte, metabolizatorii ultrarapizi vor prezenta concentraţii plasmatice de medicament foarte reduse. (Roden, 2001)

Proguanil este oxidat la nivelul Cyp2C19 şi Cyp3A4. S-a constatat că oxidarea realizată cu o viteză de 10 ori mai mare la metabolizatorii de tip rapid este atribuită polimorfismului Cyp2C19 şi explică necesitatea creşterii dozei cu 20-30% la rapid metabolizatori. (Dorne, 2003)

3. Consecinţe clinice ale polimorfismului genetic pentru chimioterapicele antineoplazice

Metabolizarea chimioterapicelor antineoplazice implică procese de conjugare realizate de glutation S-transferaze, care au drept rezultat obţinerea de compuşi inactivi. Activitatea foarte intensă a GST are drept rezultat o capacitate crescută de a conjuga şi inactiva foarte rapid compuşii care sunt substraturi pentru aceste enzime. (McLellan, 1997) Până în prezent s-a demonstrat că deficitul activităţii enzimatice la nivelul GST este corelat cu un risc crescut de neoplazii. Garte (2001) afirmă că metodologia utilizată la ora actuală este incapabilă să furnizeze date sigure privind heterozigoţii în cazul GST. Rămâne de demonstrat prin studii ulterioare care sunt implicaţiile clinice ale acestui tip de polimorfism în metabolizarea chimioterapicelor antineoplazice.

Felix (1998) a demonstrat că fenotipul de metabolizator lent asociat cu Cyp2C19 este corelat cu o creştere a riscului de leucemie datorată reducerii

metabolizării carcinogenilor. Totodată a demonstrat existența unei legături între deficitul activității enzimatice a Cyp3A4 și creșterea riscului de apariție a leucemiei la persoanele tratate cu chimioterapice care reprezintă substraturi pentru această enzimă: ciclofosfamidă, ifosfamidă, vinblastină, vindesină. Frecvența mutației care determină deficitul de activitate al Cyp3A4 este de 9% la persoanele de rasă albă și de 53% la afro-americani. (Felix, 1998)

Principala cale de metabolizare a ciclosporinei, imunomodulator cu indice terapeutic mic, este Cyp3A4. În cazul pacienților cu transplant hepatic trebuie să se țină cont și de nivelul activității enzimatice a Cyp3A4 din ficatul donorului, respectiv al primitorului. În literatură este descris cazul unui pacient cu transplant hepatic care prezenta disfuncții neurologice și insuficiență renală în condițiile unor concentrații plasmatice de ciclosporină aflate în limite terapeutice. S-a constatat că activitatea Cyp3A4 a ficatului transplantat este redusă comparativ cu a altor persoane cu transplant. Administrarea de Rifampicină, inductor enzimatic al Cyp3A a stimulat activitatea acestei enzime astfel încât pacientul a putu primi chiar doze mai mari de Ciclosporină, fără a mai prezenta efecte toxice. (Tanaka, 1998)

Administrarea de Amonalfide, antineoplazic folosit în tratamentul cancerului de sân, determină creșterea riscului de mielosupresie la pacienții acetilatori lenți. (Furet, 2002)

Inactivarea mercaptopurinei și azatioprinei se realizează sub acțiunea tiopurin metiltransferază (TPMT). La persoanele cu deficit al activității acestei enzime, administrarea de mercaptopurină sau azatioprină determină un risc crescut de efecte adverse. (Weinshilboum, 2003)

Concluzii

Medicul clinician trebuie să cunoască rolul diverselor enzime în metabolizarea medicamentelor pentru a prevedea care sunt consecințele în cazul asocierilor. Datele privind polimorfismul sistemelor enzimatice metabolizatoare prezintă multiple avantaje atât pentru cercetările privind crearea de noi medicamente în industria de medicamente, cât și pentru clinician. În prezent multe companii farmaceutice determină genotipul pacienților pe care îi introduc în trialurile clinice pentru medicamente noi, pentru a obține mai multe informații asupra proprietăților farmacocinetice și efectelor adverse încă din primele faze ale cercetării clinice. (Ingelman, 2001)

Dezvoltarea rapidă și eficientă a metodelor pentru genotipare și necesitatea genotipării o dată în viață vor face ca aceste informații să fie incluse în fișa medicală a persoanei, ceea ce va permite medicului să realizeze individualizarea terapiei. (Ingelman, 2001) Deși datele se folosesc în prezent în cercetare, crește aplicabilitatea lor în medicină deoarece, alegerea de la început a unui tratament cât mai eficient și cu cât mai puține efecte adverse pentru pacient, are ca efect scăderea numărului de vizite la medic și necesarul de timp și investigații pentru ajustarea dozelor. (Tsai, 2002)

Cunoașterea de către medic a consecințelor clinice ale polimorfismului enzimelor metabolizatoare și cunoașterea profilului genetic poate fi utilă nu numai pentru alegerea unui tratament optim, ci și pentru a explica și evita interacțiunile medicamentoase în cazul asocierilor și efectele adverse la medicamente.

Bibliografie

1. *** FDA Food and Drug Administration, Centre for Drug Evaluation and Research (CDER) – Therapeutic Products Programme (TPP) – Drug–Drug Interactions: Studies *In vitro* and *In vivo*, Guidance Document, 2000;
2. ALVAN G., BERTILSSON L. et al - Moving Toward Genetic Profiling in Patient Care: The Scope and Rationale of Pharmacogenetic/Ecogenetic Investigation, Drug Metabolism and Disposition, vol. 29, no. 4 (2), 580-585, 2001
3. BRYNNE, FORASLUND et al – Ketoconazole inhibits the metabolism of Tolterodine in subjects with deficient Cyp2D6 activity, Br. J. Clin. Pharmacol., vol. 48, no. 4, 564-571, 1999
4. CHANG G.W.M., KAM P.C.A. – The physiological and pharmacological roles of cytochrome P450 isoenyimes, Anesthesia, vol. 54, no.1, 42-51, 1999
5. DORNE, J.L.C.M., WALTON K., RENWICK A.G. – Polymorphic Cyp2C19 an N-acetylation: human variability in kinetics and pathway-related uncertainity factors, Food and Chemical Toxicology, vol. 41, 225-245, 2003
6. EVANS W.E., MCLEOD H.L. – Pharmacogenomics – Drug Disposition, Drug Targets, and Side Effects, N. Engl. J. Med., vol. 348, no. 6, 538-549, 2003
7. FELIX C.A., WALKER A. et al – Association of Cyp3A4 genotype with treatmetn-related leukemia, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., vol. 95, 13176-13181, 1998
8. FLOCKHART D.A., TANUS-SANTOS J.E. – Implications of Cytochrome P450 Interactions When Prescribing Medication for Hypertension, Arch. Intern. Med., vol. 162, 405-412, 2002
9. FURET Y., BECHTEL Y. et al – Pertinence clinique du polymorphisme génétique de la N-acétyltransférase de type 2 (NAT2), Thérapie, vol. 57, no. 5, 427-431, 2002
10. GARTE S., GASPARI L. et al – Metabolic Gene Polymorphism Frequencies in Control Populations, Cancer Epidemiol. Biomarkers & Prevention, vol. 10, 1239-1248, 2001;
11. INGELMAN-SUNDBERG M. - Implications of Polymorphic Cytochrome P450-Dependent Drug Metabolism for Drug Development, Drug Metabolism and Disposition, vol. 29, no. 4(2), 570-573, 2001
12. LOHR, J.W., WILLSKY G.R., ACARA M. – Renal Drug Metabolism, Pharmacological Reviews, vol.50, no. 1, 107-141, 1998
13. LUPUŞORU C.E. – Farmacologie, vol. III, Ed. Moldova, Iaşi, 1994;
14. MCLELLAN R.A., OSCARSON M. Et al – Characterization of a Human Glutathione S-Transferase μ Cluster Containing a Duplicated GSTM1 Gene that Causes Ultrarapid Enzyme Activity, J. Pharm. Exp. Ther., vol. 52, 6, 958-965, 1997;
15. PAINE M.F., WAGNER D.A. et al – Cytochrome P450 3A4 and P-glycoprotein mediate the interaction between an oral erythromycin breath test and rifampin, Clin. Pharmacol. Ther., vol. 72, 524-35, 2002
16. RAE, J.M., JOHNSON M.D. et al – Rifampin is a Selective, Pleiotropic Inducer of Drug Metabolism Genes in Human Hepatocytes: Studies with cDNA and Oligonucleotide Expression Arrays, J. Pharm. Exp. Ther., vol. 299, no. 3, 849-857, 2001
17. RODEN D.M. – Principles in Pharmacogenetics, Epilepsia, vol. 42, no. S5, 44-52, 2001
18. TANAKA E. – Clinically important pharmacokinetic drug-drug interactions: role of cytochrome P450 enzymes, J. Clin. Pharm. Ther., vol. 23, no. 6, 403-411, 1998
19. TSAI Y.J., HOYME H.E. – Pharmacogenomics: the future of drug therapy, Clinical Genetics, vol. 62, no. 4, p 257-262, 2002
20. VOICU V.A. – Toxicologie clinică, Ed. Albatros, Bucureşti, 1999
21. WEINSHILBOUM R. – Inheritance and Drug Response, N. Engl. J. Med., vol. 348, no. 6, 529-537, 2003

IV. CHIMIOTERAPIA INFECȚIEI BACTERIENE

TRATAMENTUL CU TIMENTIN ÎN INFECȚIILE SEVERE DIN TERAPIE INTENSIVĂ

Gh. Dorobăț*, Carmen Dorobăț**, Cătălina Luca**,
Carmen Corcaci**, A. Teodor**, L. Ghibu**, C. Nicolau**
Universitatea de Medicină şi Farmacie "Gr.T.Popa", Iaşi
**Clinica ATI – Spitalul Clinic nr. 2 "C.I.Parhon"*
***Clinica de Boli Infecţioase*

Abstract
We have made a retrospective study for Timentin therapy in severe infections. Our study has 69 patients from Intensive Care Unit of Clinical Hospital "C.I.Parhon" – they were surgical and non-surgical patients, diagnosed with severe sepsis, septic shock and MSOD. We have followed the clinical, paraclinical and bacteriological tests and we have made the prognosis on APACHE II score. The mortality in our study was 8.7%, so we can decided that the therapy had very good results.

Material şi metodă

Pentru a evidenţia eficienţa clinică a tratamentului cu Timentin în infecţiile severe din terapie intensivă, am efectuat un studiu clinic prospectiv nerandomizat pe 69 pacienţi din Clinica ATI a Spitalului Clinic "C.I.Parhon" Iaşi şi 31 pacienţi din Unitatea de Terapie Intensivă (UTI) a Spitalului Clinic de Boli Infecţioase Iaşi în perioada 1.01.2001 – 30.06.2002. Toţi au fost diagnosticaţi cu sepsis conform ACCP/SCCM asociat cu diferite afecţiuni chirurgicale şi urologice sau medicale. La aceşti pacienţi s-a introdus tratamentul cu Timentin de primă intenţie cu doza maximă admisă (4 flacoane x 3,2 g/zi). Excepţie au făcut pacienţii cu insuficienţă renală acută (9 cazuri) sau cronică acutizată (3 cazuri), care au primit doze reduse corespunzător clearance-ului de creatinină.

În studiu s-a urmărit comportamentul bolnavilor pe grupe de vârstă, sex, durată de spitalizare, teren imunologic, diagnosticul clinic, intervenţia chirurgicală,

dacă uroculturile au fost sau nu pozitive pre-operator (sau post-operator).

De asemenea, s-a urmărit durata în care s-a produs:

- ameliorarea clinică;
- afebrilitatea;
- vindecarea post-operatorie;
- corectarea disfuncţiilor organice;
- negativarea examenelor bacteriologice, şi
- mortalitatea.

Rezultate şi discuţii

Cu privire la rezultatele obţinute, în studiul efectuat au fost cuprinşi pacienţi cu următoarele grupe de vârste şi sexe (tabele 1 şi 2).

Tabel 1. Repartiţia pe grupe de vârste

Vârsta	Număr cazuri	%
< 20 ani	5	7,2
20 – 30 ani	11	15,9
31 – 50 ani	16	23,1
51 – 60 ani	14	20,2
> 60 ani	23	33,3
TOTAL	69	100,0

Tabel 2. Repartiţia pe sexe

Sex	Număr cazuri	%
Masculin	42	60,8
Feminin	27	39,2
TOTAL	69	100,0

Durata de spitalizare a pacienţilor din lotul studiat a fost variabilă, în funcţie de severitatea infecţiei şi numărul de organe afectate. Astfel, am constatat o durată minimă de 12 ore şi maximă de 25 zile (tabel 3).

Tabel 3. Durata de spitalizare

Durata	Număr cazuri	%
12 – 24 ore	6	8,7
24 ore – 7 zile	18	26,0
7 – 14 zile	26	37,6
14 – 21 zile	15	21,7
> 21 zile	4	5,8

Statusul imunologic al pacienţilor a fost un factor determinant al evoluţiei cazurilor, dar şi relaţia dintre cauze, terenul imunodeprimat şi sexul pacienţilor (tabelul 4).

Tabel 4. Statusul imunologic şi cauzele imunodepresiei

Terenul imunologic	Nr. cazuri	%	Sexul
Imunocompetenţi	18	26,0	10 F/8 B
Imunodeprimaţi	51	74,0	13 F/38 B
Cauze ale imunodepresiei	●diabet zaharat tip II ●neoplasme (diverse localizări) ●sepsis – şoc septic ●hepatită cronică ●etilism ●boli cardiovasculare cronice		

Diagnosticul pacienţilor trataţi cu Timentin® de primă intenţie a cuprins un număr foarte mare de afecţiuni ale principalelor aparate şi sisteme, toţi bolnavii fiind diagnosticaţi şi cu sepsis, sepsis sever sau şoc septic. Majoritatea pacienţilor internaţi în ATI au fost operaţi şi au necesitat tratament cu Timentin chiar de la internare, unii având uroculturi pozitive de la internare în Clinica Urologică, la ceilalţi acestea s-au pozitivat post-operator (5).

Toţi pacienţii chirurgicali provenind din alte servicii de chirurgie, au fost transferaţi în stare foarte gravă pentru fenomene de IRA, necesitând asocierea de la început a Timentin-ului cu o chinolonă şi un aminoglicozid sau un glicopeptid. Acelaşi tratament, dar cu doze adaptate de la caz la caz şi în funcţie de clearance-ul creatininei l-au primit şi pacienţii operaţi în Clinica II-a Urologie-Chirurgie, sau proveniţi din Clinica IV-a Medicală-Nefrologie. Astfel, Timentinul® a fost administrat în doză de (2):

a)-3,2 g la 6-8 ore la clearance-ul creatininei > 30 ml/minut (afectare renală uşoară).

La bolnavul hemodializat zilnic, doza poate fi 3,2 g/6 ore.

b)-1,6 g la 8 ore sau 3,2 g la 12 ore la clearance-ul creatininei între 10-30 ml/minut (afectare renală medie);

c)-1,6 g la 12 ore la clearance-ul creatininei < 10 ml/minut (afectare renală severă).

Ca urmare a tratamentului cu Timentin® de primă intenţie, pe lotul de bolnavi studiat am obţinut următoarele rezultate în evoluţia cazurilor:

- ameliorare clinică în 3-5 zile;

- afebrilitate în 5-20 zile;
- vindecare post-operatorie în 7-25 zile;
- corectarea disfuncţiilor de organ:
  -renală în 7-24 zile;
  -respiratorie în 5-8 zile;
  -cardiovasculară în 3-5 zile;
  -digestivă şi teste hepatice în 4-12 zile;
  -cerebrală în 2-10 zile;
  -echilibrul fluido-coagulant în 3-7 zile.

Ca urmare a unei antibioterapii corect aplicate, am obţinut rezultate deosebit de bune, concretizate în negativarea examenelor bacteriologice (96,5% cazuri) în termene de timp variabile (7-21 zile) (1,8).

Sub tratamentul cu Timentin®, evoluţia bolii de bază şi a afecţiunilor asociate a fost bună la 63 pacienţi (91,3%) (3).

Noi am observat în lotul studiat numai 2 cazuri (2,8%) cu reacţii adverse uşoare: rush cutanat generalizat şi senzaţie de vomă după aproximativ 10-12 zile de tratament cu Timentin în triplă asociere. Din această cauză, nu putem afirma cu certitudine că reacţiile alergice respective au fost cauzate cu certitudine de Timentin prin supradozare, sau datorită efectelor adverse cumulate ale celor 3 droguri. Oricum, în aceste cazuri am oprit administrarea antibioticelor şi s-au administrat antiinflamatoare şi antihistaminice pe cale generală şi locală. Evoluţia cazurilor a fost favorabilă după oprirea antibioterapiei, ambele persoane fiind externate vindecat sau ameliorat (4,9).

Gravitatea tuturor cazurilor a fost apreciată la internare şi în evoluţie cu scorul APACHE II (5).

Din cei 21 pacienţi cu sepsis, şoc septic şi disfuncţii organice, 15 pacienţi (21,7%) au prezentat MSOD (cu 2, 3, 4 şi 5 organe afectate). Dintre aceştia, 6 pacienţi (8,6%) au dezvoltat *insuficienţă respiratorie acută hipoxemică* (ARDS – Acute Respiratory Distress Syndrome). Toţi pacienţii cu ARDS au fost IOT şi VMC timp de 1-8 zile. Din cei 15 pacienţi cu MSOD, *9 au fost supravieţuitori* - ei având 2 şi 3 disfuncţii de organ şi *6 au dcedat* – cei cu 4 şi 5 organe afectate (6,7).

Din lotul celor 21 pacienţi care au primit terapie intensivă complexă, 9 pacienţi au necesitat şi hemodializă/hemofiltrate veno-venoasă pe ADM/ABM sau GAMBRO timp de 7-24 zile,cu un număr mediu de 10 hemodialize/pacient (9).

Concluzii

1.Timentin®-ul a fost antibioticul de primă intenţie la pacienţii studiaţi.

2.Timentin®-ul este antibioticul ideal la pacienţii pretrataţi cu alte antibiotice uzuale (cefalosporine, chinolone) mai ales la bolnavii cu infecţii nozocomiale, care cel mai frecvent dezvoltă infecţii cu bacterii Gram negative: *E.coli*, piocianic, *Proteus, Klesiella*, enterococ, etc. cu rezistenţă multiplă.

3.Timentin-ul este util, de asemenea, la pacienţii deprimaţi imunologic, la diabetici şi la cei cu sepsis sever.

4.Timentin®-ul este eficient şi sigur în: infecţii renale, abdomino-pelvine, pulmonare, ale ţesutului celular subcutanat şi ale pielii.

5.Mortalitatea în studiul efectuat a fost de 6 cazuri (8,7%) şi s-a produs în primele 12-24 ore deoarece gravitatea pacienţilor a fost deosebită. Decesul s-a datorat:

- gravităţii cazurilor (4-5 organe afectate);
- pacienţi pretrataţi cu antibiotice uzuale;
- imunitatea compromisă;
- internare tardivă în clinica chirurgicală şi ATI.

Bibliografie

1. BOCHUD P.Y.- "Antibiotics in sepsis". Intensive Care Med. 2001, 9 (suppl.1), S36
2. BUTTENSCHOEN K., BUTTENSCHOEN D.C., BERGER D. et al.- "Endotoxemia and acute phase proteins in major abdominal surgery", Am.J.Surg, 2001,102: 808-812,
3. DOROBĂŢ GH., DOROBĂŢ C.M. - "ARDS. Plămânul de şoc", Ed.Tehnopress, Iaşi, 1999.
4. GOLDSTEIN E.J.C.- "Activity of ampicillin/sulbactam ticarcillin/clavulanic acid clarithromycin and 11 other antimicrobial agents against anaerobic bacteria isolated from infections in children",. Clin.Infect.Dis. 1995
5. LANDRY D.W.- "The pathogenesis of vasodilatatory shock".N.Engl.J.Med. 2001 345: 588-595,
6. LUCA V., DOROBĂŢ C.M., DOROBĂŢ GH. – "Terapia intensivă în bolile infecţioase severe" Ed.Tehnopress, Iaşi . 2001
7. MAC FIE J.,O'BOILE C., MITCHEL C.J. et al.- "Gut origin of sepsis: a prospective study investigating associations between bacterial translocation, gastric microflora and septic morbidity". Gut, 1999, 45: 223-228
8. QUADRI S.M.H.,UENO Y., DOMENICO P., CUNHA B.-"Activity of ticarcilin-clavulanic acid against G- nosocomial isolates", , Clin.Infect.Dis, 1995
9. ***The Sanford Guide to Antimicrobial Therapy ,.Ed. Dallas, Tx, Antimicrobial Therapy, Inc. 2001. 31st ,p.2, p.17, p.38,

STUDIU TERAPEUTIC AL SALMONELOZEI GASTROINTESTINALE

Cătălina Luca, A. Teodor, Carmen Dorobăţ, D. Leca,
R. Fântânaru, Carmen Corcaci, D.N. Teodor, Tatiana Turcu
Universitatea de Medicină şi Farmacie „Gr. T. Popa" Iaşi
Departamentul de Boli Infecţioase

Abstract
Gastrointestinal salmonellosis is a major health problem the diagnosis and therapy being difficulty, specially, at suckling in conditions at appearance of multiresistant strains who don't respond to a classic antibiotic treatment.

Material şi metode

S-au analizat retrospectiv 424 cazuri de salmoneloze digestive internate în Clinica de Boli Infecţioase Iaşi, în perioada 1.01.2000-1.10.2002, datele fiind obţinute din foile de observaţie şi prelucrate statistic.

Rezultate

Incidenţa acestei afecţiuni a fost crescută, ea reprezentând 40% din totalul bolii diareice acute spitalizate în Clinica de Boli Infecţioase Iaşi. Cele 424 cazuri au fost reprezentate de pacienţi cu vârste diferite, provenite din focare intraspitaliceşti, focare familiale şi cazuri sporadice.

Cele mai multe cazuri s-au înregistrat la grupa de vârstă a sugarului – 162 cazuri (38%), 112 cazuri având vârste între 5-15 ani (26,4%) şi 150 adulţi (reprezentând 35,37%) (tabelul 1).

Tabel 1. Repartiţia cazurilor de grupe de vârstă

Vârsta (ani)	Număr cazuri	%
0-1	102	38,0
1-4	63	14,85
5-15	49	11,55
16-25	78	18,39
26-35	36	8,49
36-50	36	8,49

Proveniența cazurilor relevă 3 focare de toxiinfecții alimentare cu *Salmonella* grup B din centrele de plasament din Iași, 2 focare de toxiinfecții alimentare cu Salmonella grup B în campusul studențesc, 1 focar familial de toxiinfecție alimentară cu Salmonella grup B și 143 cazuri de salmoneloză nozocomială provenite din Spitalul de Pediatrie Iași (tabelul 2). 250 cazuri proveneau din mediul rural (58,96%), cu predominanța sexului feminin (198 cazuri = 79,2%), în perioada menționată fiind spitalizați 275 cazuri, din care cei mai mulți au fost copii (162 cazuri = 58,9%). Dintre aceștia la 22 cazuri (13,5%) a fost prezentată malnutriția protein calorică.

Tabel 2. Proveniența salmonelozelor

Toxiinfecții alimentare cu Salmonella grup B	Focar pentru plasament	Focar familial	Focar campus studențesc	Nozocomial
Număr cazuri	3 focare (89 cazuri)	1 focar (6 cazuri)	2 focare (186 cazuri)	143 cazuri

Diagnosticul de salmoneloză a fost stabilit pe criterii clinice și confirmat prin coroborarea examenului clinic cu datele epidemiologice și de laborator – coprocultura.

Salmoneloza digestivă a prezentat un tablou clinic tipic, similar altor enterite acute, cu febră, scaune diareice și sindrom dureros abdominal (tabelul 3). 210 pacienți (49,5%) au prezentat febră și scaune diareice; 150 pacienți (35,3%) au prezentat febră + diaree și vărsături și 93 pacienți (21,93%) au prezentat doar diaree și inapetență. Deshidratarea a fost prezentă la 110 cazuri (25,9%), din care 23 (20,90%) cu aspect grav.

Tabel 3. Salmoneloza digestivă: simptomatologie clinică

Simptom clinic	Număr cazuri	%
Febră	370	87,26
Vărsături	150	35,37
Inapetență	93	21,93
Dureri abdominale	207	48,82
Scaune diareice	424	100,0

Coproculturile pacienților au fost pozitive în 283 cazuri, izolându-se diferite serogrupuri de Salmonella: 204 – Salmonella grup B, 72 – Salmonella grup D și 7 cazuri cu alte grupe de Salmonella.

Analiza bacteriologică a cazurilor spitalizate cu salmoneloză, semnalează diferențe semnificative între sensibilitatea celor 2 grupe de Salmonella.

S-a raportat astfel din cele 287 tulpini de Salmonella testate:
- 96% sensibilitate la colimicină;
- 84% sensibilitate de imipenem;
- 80% sensibilitate la betalactamine + inhibitori de betalactamaze;
- 73% sensibilitate la gentamicină şi la cefalosporine de generaţia a III-a;
- 67% sensibilitate la acid nalidixic;
- 34% sensibilitate la ampicilină.

Comparativ cu decada '90, se remarcă persistenţa sensibilităţii crescute a salmonelelor la colimicină (> 90%), creşterea sensibilităţii la cefalosporine de generaţia III-a şi betalactaminelor + inhibitori de betalactamaze şi creşterea rezistenţei la ampicilină.

Terapia salmonelozelor gastrointestinale s-a realizat cu medicaţie etiologică şi simptomatică (1). Toate cazurile spitalizate au primit iniţial terapie etiologică cu fluorochinolone şi ulterior ghidată de antibiogramă, luându-se în consideraţie şi bolile asociate sau forma clinică de boală.

Ca forme clinice de boală au fost întâlnite: forme cu evoluţie uşoară (208 cazuri = 49,05%), forme medii de boală (160 cazuri = 37,75%) şi forme grave (56 cazuri = 13,20%).

Dintre fluorochinolone, ciprofloxacina a fost utilizată cu administrare orală în formele uşoare şi medii de boală în doză de 20 mg/kgc/zi timp de 5 zile; şi cu administrare injectabilă, în doză de 10 mg/kgc/zi, în formele severe de boală. În aceste forme severe s-au utilizat în terapie şi asocierea fluorochinolone + cefalosporine de a III-a generaţie (Ceftazidimă/Ceftriaxonă) (1,7), durata tratamentului fiind în medie 14 zile (cu extreme între 7 şi 21 zile), până la vindecarea clinico-biologică.

Astfel, 368 pacienţi au primit ciprofloxacină per os, reprezentând 86,79%, în timp ce 56 bolnavi cu forme severe au beneficiat de asocieri de: ciprofloxacină + ceftazidimă 55,35% (31 bolnavi) sau ciprofloxacină + ceftriaxonă – 44,64% (25 pacienţi). Durata cea mai mare a terapiei a fost la imunodeprimaţi cu infecţii intestinale cu Salmonella externarea pacienţilor efectuându-se la negativarea coproculturilor (5).

Tabel 4. Tratamentul salmonelozei digestive

Tratament	Număr cazuri	%
Ciprofloxacină p.o.	368	86,79
Ciprofloxacină (inj.) + Ceftazidimă	31	7,31
Ciprofloxacină (inj.) + Ceftriaxonă	25	5,39

Evoluţia pacienţilor cu salmoneloză a fost favorabilă cu vindecarea clinico-biologică în 96,7% cazuri, reprezentând 410 bolnavi.

Letalitatea prin această boală a fost de 3,30%, reprezentând 14 cazuri, şi a

variat de la an la an. Letalitatea cu frecvenţa cea mai ridicată s-a înregistrat în rândul formelor grave de boală, iar decesele s-au produs prin complicaţii sau boli asociate salmonelozei (toate la grupa de vârstă a sugarului). Gravitatea şi letalitatea cea mai mare fiind la nou-născuţi; la aceştia decesele au survenit prin colaps şi deshidratare – în 8 cazuri (57,19%); prin complicaţii pulmonare în 2 cazuri (14,28%); şi fenomene digestive asociate cu cele pulmonare în 4 cazuri (28,57%).

Discuţii şi concluzii

În perioada 2000-2002 s-au internat 424 cazuri de salmoneloze digestive, corespunzând unui procent de 8,2% din totalul infecţiilor digestive spitalizate. Boala a predominat la sexul feminin şi la grupa de vârstă a sugarului, cu 162 cazuri, reprezentând 44% la pacienţii deja spitalizaţi, în condiţii nozocominale.

Dintre factorii favorizanţi ai infecţiei la sugar atrag atenţia: prematuritatea, prezenţa malformaţiilor congenitale precum şi afecţiunilor debilitante din trecutul patologic al pacienţilor (dispepsiile repetate şi/sau alimentaţia artificială; bronhopneumonia) (5).

Manifestările clinice ale formei digestive a salmonelozelor sunt comune cu a altor enterocolite bacteriene, diferenţierea fiind posibilă doar e baza examenului bacteriologic şi a datelor epidemiologice (6).

Tratamentul formelor gastrointestinale a salmonelozei s-a realizat în toate cazurile cu ciprofloxacină sau fluorochinolone asociate cu cefalosporine de a III-a generaţie în formele severe (7).

În literatura de specialitate letalitatea prin salmoneloza digestivă are o incidenţă variabilă, cu o gravitate deosebită până la 8 luni; studiul nostru relevând o letalitate de 2,97% şi la grupa de vârstă a sugarului, cu gravitate mare la nou-născut.

Terapia etiologică a fost iniţiată în toate cazurile cu fluorochinolone sau fluorochinolone asociate cu cefalosporine de generaţia a III-a, în formele grave.

Sunt semnalate tot mai frecvent creşteri ale rezistenţei salmonelelor la ampicilină, cloramfenicol, biseptol, tetraciclină, mai ales pentru cazurile provenite din infecţiile intraspitaliceşti, pretratate cu ampicilină sau biseptol (unde se selectează tulpini multiplurezistente) (2, 3, 4). Şi în prezentul studiu remarcăm creşterea rezistenţei la ampicilină, persistenţa sensibilităţii crescute a salmonelelor la colistin precum şi creşterea sensibilităţii la cefalosporine de generaţia a III-a şi la betalactamine + inhibitori de betalactamaze.

Salmoneloza rămâne una dintre cele mai dificile probleme ale patologiei infecţioase nozocomiale, în special pentru nou-născuţi şi sugari plurispitalizaţi.

Bibliografie

1. BRYAN J.P., ROCHA H., SCHELD W.M.: Problems in salmonellosis: rationale for clinical trials with newer β-lactam agents and quinolon. Rev. Infect. Dis., 1986, 8, 189-207.

2. CHALKY R.B., BLASER M.J.: A review of human salmonellosis: III magnitude of Salmonella infection in the United States. Rev. Infect. Dis., 1988, 10, 111-124.
3. CORCACI D.C., TURCU T., FÂNTÂNARU R. ET AL.: Utilizarea fluorochinolonelor în tratamentul salmonelozelor ineficient tratate la copil. Rev. Med. Chir. Iaşi, 2001, 105, 2, 301-303.
4. LAMB V.A., MAYHALL C.G., SPADORA A.C. ET AL.: Outbreak of Salmonella thyphimurium gastroenteritis due to an imported strain resistant to ampicillin, chloramphenicol and trimethoprim-sulfamethoxazole in a nursey. J. Clin. Microb., 1984, 20, 1076-1079.
5. MAC DONALD K.L., COHEN M.L., HARGRETT-BEAN M.T. ET AL.: Changes in antimicrobial resistance of Salmonella isolated from human in the United States. JAMA, 1987, 215, 1496-1499.
6. MANDEL G.L., DOUGLAS G.R., BENNETT J.E.: Principles and Practice of Infectious Diseases. John Willey, New York, 2000.
7. PICHLER H.C.T., DIRIDE G., STICKER K. ET AL.: Clinical efficacy of ciprofloxacin compared with placebo in bacterial diarrhea. Am. J. Med., 1987, 82, 329-332.

NOȚIUNI DE FIZIOPATOLOGIE CU IMPLICAȚII ÎN TERAPIA GASTRITELOR CU *HELICOBACTER PYLORI*

Magda Bădescu, Manuela Ciocoiu, L. Bădescu,
Codruța Fratu
Universitatea de Medicină și Farmacie „Gr.T.Popa", Iași
Departamentul de Fiziopatologie

Abstract

The paradox that antral *Helicobacter pylori* infection predisposes to gastritis and duodenal ulceration has been the subject of much speculation. Several studies have confirmed that this infection is associated with increased basal and meal-, bombesin-, and gastrin-releasing peptide-stimulated gastrin levels and evidence in support of a Helicobacter pylori-linked hypersecretion of acid contributing to an excessive duodenal acid load is now emerging. Current data suggest that these abnormalities can, at least partly, be explained by an impaired inhibitory reflex control of gastric emptying, gastrin release and acid secretion, with may be connected with the finding of reduced concentrations of the inhibitory peptide somatostatin in the antral mucosa of *Helicobacter pylori*-infected subjects, although the more precise underlying factor/mechanisms have not yet been identified. It may be that the inflamed gastric mucosa is unable to respond to stimuli (antral distension, low pH) that normally activate these feedback mechanisms, due to an altered nerve function and/or changed functional activity of endocrine cells, which in turn may be caused by substances produced by the *Helicobacter pylori* organism or by components of the inflammatory process.

Result from *in vivo* and animal experiments suggest that inflammatory mediators may act as modifiers of both acid secretion and gastrin release. Interleukin (IL)-1β inhibits gastric acid secretion in rats and IL-1β, tumor necrosis factor (TNF)-α, interferon (IFN)-γ and IL-2 stimulate gastrin release from cultured G cells.

Clinical studies continue to provide evidence that gastritis and ulcer diseases can be cured by eradication of this highly evolved gastric pathogen. Helicobacter pylori infection contributes to hypergastrinemia and hypersecretion of acid by blocking inhibitory reflex pathways to gastrin and parietal cells normally activated by antral distention.

During the past decade the rediscovery of *Helicobacter pylori* has decisively changed most of the future perspectives for the understanding, diagnosis, prevention and treatment of gastric diseases. This review briefly summarizes the current knowledge of the important pathogenic mechanisms and therapeutical consequences.

Introducere

Am considerat utilă abordarea acestui subiect deoarece, *Helicobacter pylori* este implicat într-o proporţie mereu crescândă în întreaga patologie digestivă şi chiar în cea nondigestivă. În prezent este acceptat faptul că infecţia cu *Helicobacter pylori* este cea mai comună cauză de gastrită cronică, iar macrolidele reprezintă metoda optimă de tratament.

De asemenea, infecţia este implicată în geneza multifactorială a ulcerului, mai ales a ulcerului duodenal, fiind asociată şi cu cancerul gastric, câteva tipuri de limfom, în special limfomul de tip MALT, dispepsia funcţională, gastritele limfocitare, boala Menetrier şi enteropatia cu pierdere de proteine.

În tractul gastrointestinal normal există o interacţiune constantă între mecanismele protectoare ale gazdei şi microorganismele intraluminale cu produşii lor. Mecanismele de protecţie ale gazdei sunt solicitate nu numai pentru a se evita pătrunderea microorganismelor intraluminale din colon prin mucoasă în circulaţia sistemică, ci şi pentru a se obţine o relativă sterilitate în interiorul lumenului intestinului subţire bogat în nutrienţi.

Colonizarea tubului digestiv cu *Helicobacter pylori* alterează grav şi ireversibil mecanismele locale şi generale de apărare. Mai mult, prezenţa acestui germene modifică secreţia endocrină a celulelor G şi D cu efecte grave asupra augmentării aciditătii gastrice şi scăderii apărării mucoasei digestive împotriva agresiunii clorhidropeptice.

Caracteristici morfo - fiziologice ale bacteriei *Helicobacter pylori*

Descoperirea bacteriei *Helicobacter pylori* şi a rolului său în fiziopatologia gastrică a condus la schimbări fundamentale în înţelegerea mecanismelor ce stau la baza patologiei gastro-intestinale şi a conduitei terapeutice. Deşi această bacterie a fost descoperită în mucusul gastro-duodenal la sfârşitul sec. XIX, abia în secolul următor a putut fi caracterizată, prin microscopie fotonică şi electronică, iar mai târziu (1983) a fost izolată, cultivată şi denumită succesiv Campylobacter pylori şi în final *Helicobacter pylori* (1989).

După prima raportare din 22 octombrie 1982, la sesiunea ştiinţifică a Colegiului Regal Australian al Medicilor, a prezenţei *Helicobacter pylori* în biopsiile gastrice şi asocierii lui cu gastrita şi ulcerul peptic, au fost izolate şi descrise numeroase specii de Helicobacter atât la organismul uman cât şi la numeroase specii de animale. În prezent, pe baza analizei ARN ribosomal 16S, a caracteristicilor fenotipice şi biochimice, în cadrul genului *Helicobacter* s-au diferenţiat 17 specii.

Virulenţa este variabilă la diferitele tulpini de *Helicobacter pylori*, ceea ce poate fi o explicaţie a faptului că la majoritatea persoanelor infectate, evoluţia este de zeci de ani, oligo sau asimptomatică, spre ulcer, gastrită sau cancer.

Helicobacter pylori este prima bacterie, dovedită a fi implicată în procesul de carcinogeneză la om. În 1995, la Lyon, OMS şi Agenţia Internaţională de

Cercetare a Cancerului au acreditat *H. pylori* drept carcinogen de categoria întâia.

Aciditatea gastrică şi peristaltismul ar trebui să împiedice în mod normal colonizarea bacteriană a stomacului. Selecţia naturală a înzestrat însă speciile de *Helicobacter pylori* cu mecanisme de eludare a acestei "bariere" primare de apărare pentru determinarea unei infecţii persistente.

Aceste bacterii gram-negative, spiralate, aerobe, prezintă 2 membrane ce delimitează un spaţiu periplasmic. *Helicobacter pylori* face parte din bacteriile care se dezvoltă cel mai bine la un pH neutru dar sunt capabile de supravieţuire şi proliferare şi în mediul acid, mărindu-şi pH-ul periplasmic, fiind numite bacterii *neutrofile acid tolerante*.

Aderarea acestei bacterii la celulele epiteliului gastric este considerată un prim pas al colonizării stomacului cu *Helicobacter pylori*. Bacteria aderă la celulele epiteliale gastrice umane prin intermediul interacţiunii dintre adezine (hemaglutininele fimbriale şi afimbriale, lectinele acidului sialic, exoenzime) şi receptorii celulei gazdă reprezentaţi de variate molecule cum ar fi: acidul sialic, fosfatidil-etanolamina, gangliozidul GM_1, heparina şi antigenul Lewis.

Reprezentativ este şi faptul că *Helicobacter pylori* interacţionează cu:

- colagenul IV,
- vitronectina,
- heparan sulfatul şi
- sulfomucina, prin toate acestea, *H. pylori* fiind o bacterie cu o mare capacitate de ataşare la celulele gazdă.

Studiile electrono-microscopice au descris două modalităţi diferite de ataşare a *Helicobacter pylori* la suprafaţa celulelor cu mucus.

- *Helicobacter pylori* se află în contact strâns cu plasmalemele celulelor mucoasei de suprafaţă, membranele lor formând prin adeziune suporturi asemănătoare unor platouri (Fig. 1a).
- Cea de-a doua modalitate de ataşare a *Helicobacter pylori* la suprafaţa luminală a celulelor cu mucus se realizează prin filamente cu diametrul de 2 nm, asemănătoare unor fibrile (Fig. 1b).

Chen şi colab. (1994) raportau că formele cocoide aderă frecvent de epiteliul gastric, dar pot fi găsite şi libere în mucus, cel mai adesea fiind grupate în mănunchiuri. Aceste forme au fost remarcate în special în straturile de mucus superior şi mijlociu. S-a observat că şi formele cocoide prezintă filamente asemănătoare fibrilelor, dispuse radiar de la suprafaţa lor spre mucusul înconjurător.

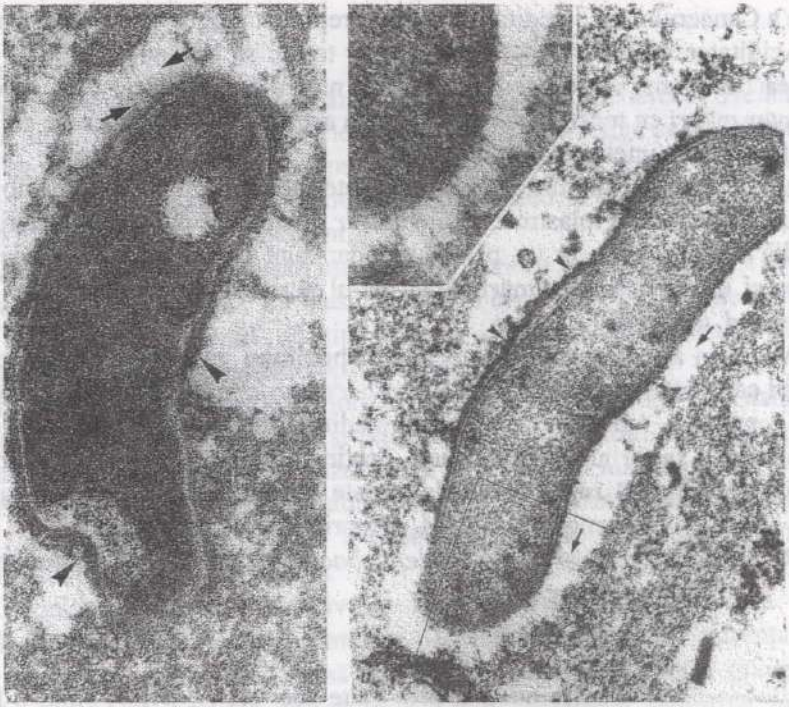


Fig. 1 a şi b: Modalităţi de ataşare a *Helicobacter pylori* la celulele cu mucus: a.filamente în platou, b.filamente microfibrilare (după Ogata, Araki and Ogata, 1998)

Helicobacter pylori fiind o bacterie mobilă are o mare abilitate de a se deplasa între diferitele regiuni ale stomacului.

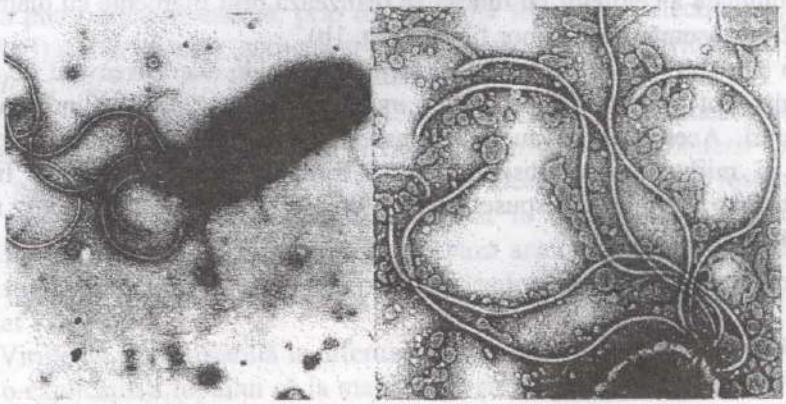


Fig. 2: Evidenţierea aparatului flagelar prin colorarea negativă a *Helicobacter pylori* izolat din culturi (după Cotrutz şi colab. 2001).

Cei 1-6 flageli (Fig. 2) cu bulbi terminali facilitează locomoţia în mucusul gastric şi contracarează peristaltismul. Cercetările experimentale efectuate pe animale au dovedit că doar speciile flagelate pot induce şi menţine colonizarea gastrică. Majoritatea organismelor *Helicobacter pylori* se găsesc libere în stratul de mucus şi doar câteva se leagă de celulele epiteliale.

Membrana externă a organismelor gram-negative este un bistrat fosfolipidic, conţinând o mare varietate de proteine – *porinele* - capabile să controleze fluxul diferitelor molecule mici prin membrană.

Un mijloc de protecţie împotriva acidităţii, ar fi alterarea punctului izoelectric al acestor proteine pentru reducerea transportului prin bistrat. Astfel, ele sunt încărcate cu mai multe sarcini pozitive în mediul acid decât cele ale bacteriilor neutrofile. Creşterea punctului izoelectric sugerează că atât membrana externă, cât şi cea internă a bacteriei pot fi expuse la aciditate mare, deoarece creşterea numărului de aminoacizi încărcaţi pozitiv sau scăderea numărului de acizi carboxilici la nivelul proteinelor membranare conferă rezistenţă la aciditatea mediului înconjurător sau a feţei externe a membranei interne a *Helicobacter pylori*. Acest mecanism adaptativ este utilizat de bacterie atunci când este expusă direct la aciditatea din lumen. Reducerea fluxului protonic furnizează doar o protecţie tranzitorie, fiind necesare şi alte mecanisme pentru supravieţuirea pe termen lung şi proliferarea bacteriei în mediul gastric, lucru dovedit şi de faptul că *Helicobacter pylori* în vitro, la pH < 4 în absenţa ureei, îşi pierde viaţa în câteva minute.

O trăsătură remarcabilă a acestei bacterii este *sinteza de ureză*. O proporţie de 15% din sinteza proteică cuprinde producţia de ureză A şi B (reduc aciditatea micromediului şi a pH-ului periplasmic). Studii efectuate pe bacterii în cultură au relevat faptul că la un pH>6,5 activitatea ureazică este scăzută, în timp ce la pH<6,5 aceasta creşte de aproximativ 10 ori, atingând maximul la pH 5,5 şi rămânând stabilă la pH 3 după care începe să scadă. Aceleaşi studii indică faptul că ureaza de suprafaţă are şi ea un rol important în menţinerea unui mediu tolerabil bacteriei. Activă la un pH gastric mai mic de 6,5, permite supravieţuirea şi proliferarea bacteriei la pH 2-6, funcţie însă şi de concentraţia ureei gastrice. Din datele prezentate se poate concluziona că supravieţuirea *Helicobacter pylori* în prezenţa ureei în condiţiile oferite de mucoasa gastrică este posibilă la un pH cuprins între 2 şi 6,5. Prin urmare *Helicobacter pylori* va coloniza numai acele regiuni ale mucoasei gastrice ce prezintă un pH cuprins între aceste limite. Deci, pH-ul de la suprafaţa epiteliului antral şi din lumenul glandelor este mai compatibil cu supravieţuirea bacteriei decât cel de la nivel fundic.

Gradul înalt de specificitate al adezivităţii *Helicobacter pylori* - celulă epitelială gastrică este demonstrat şi de faptul că, atunci când *Helicobacter pylori* este găsit în duoden, el acoperă doar insulele de metaplazie gastrică şi nu celulele de tip intestinal.

Tot mai mulţi cercetători consideră astăzi că abilitatea *Helicobacter pylori* de a supravieţui şi dezvolta în mediul ostil gastric se datorează atât unor mecanisme de protecţie faţă de aciditatea gastrică cât şi dezvoltării unei căi de utilizare a unui factor gastric pentru proliferarea sa. Acest factor este *gastrina*, peptid reglator sintetizat şi eliberat de celulele endocrine de la nivelul mucoasei gastrice. În cazul infecţiei cu *Helicobacter pylori* se ştie că acesta colonizează cu precădere zona antrului gastric care prezintă cea mai densă populaţie de celule G, iar rezultatul este apariţia hipersecreţiei de gastrină şi pierderea feed-back-ului negativ fiziologic de control al secreţiei. Această hipersecreţie este stimulată şi de creşterea nivelului de citokine proinflamatorii. *Helicobacter pylori* utilizează acest răspuns al ţesutului gazdă în beneficiul său: hipersecreţia stimulează exprimarea unui factor de creştere bacterian ce va induce o proliferare consecutivă a bacteriei.

Efectele colonizării cu *Helicobacter pylori*

Infecţia cu *Helicobacter pylori* induce un răspuns important atât sistemic, cât şi local, la nivelul mucoasei. Cu toate acestea, Ac care apar ca răspuns nu conduc la eradicarea bacteriei din stomac, chiar dacă *H. pylori* este sensibil *in vitro* la fagocitoza Ac-dependentă, mediată de complement.

Aceste observaţii au condus la ipoteza că stratul de mucus de la nivel gastric ar putea fi o *"nişă de protecţie"* în care *Helicobacter pylori* se poate dezvolta, fiind relativ inaccesibil anticorpilor specifici.

În general, colonizarea stomacului de către *Helicobacter pylori* este însoţită de *inflamaţie gastrică* ce presupune existenţa neutrofilelor, celulelor T şi macrofagelor, împreună cu leziuni degenerative de diferite intensităţi ale celulelor epiteliale (Goodwin şi colab., 1986) şi eliberarea de citokine. Astfel, celulele epiteliale gastrice exprimă antigeni MHC clasa II, iar mucoasa gastrică prezintă nivele crescute de interleukină 1β (IL-1β), IL-2, IL-6, IL-8, IL-10 şi TNF. Eliberarea acestor citokine, cu excepţia lui IL-10, sporeşte inflamaţia prin chemotactism şi determină activarea neutrofilelor şi a celulelor T.

Un alt efect al colonizării gastrice cu *Helicobacter pylori* este *perturbarea secreţiei de gastrină şi somatostatină*. Astfel, atât concentraţia somatostatinei la nivelul mucoasei antrale, cât şi numărul celulelor D antrale, producătoare de somatostatină scad în infecţia cu *Helicobacter pylori*, eradicarea acesteia aducându-le la normal. Datele experimentale sugerează că hipergastrinemia existentă la persoanele infectate cu *Helicobacter pylori* se poate datora secreţiei scăzute de somatostatină.

Helicobacter pylori afectează secreţia mucoasei şi prin *perturbarea metabolismului histaminei*, secretând N-histamin metiltransferază (N-HMT) care transformă histamina într-un catabolit neobişnuit, N-metilhistamină (N-MeHA), puternic secretagog gastric şi inhibitor al eliberării somatostatinei antrale.

Deci, *Helicobacter pylori* poate deregla secreţia acidă gastrică atât prin alterarea metabolismului histaminei, cât şi prin inhibarea secreţiei somatostatinei.

S-a postulat că intensitatea inflamaţiei acute este direct proporţională cu densitatea *Helicobacter pylori* (Adam şi colab., 1992).

Alte modificări histologice ce apar la nivelul mucoasei, în faza acută, sunt:

- descuamări celulare în lumenul criptelor,
- eroziuni şi ulceraţii ale epiteliului superficial (Fig.3), cu pierderea funcţiei de barieră a mucoasei.

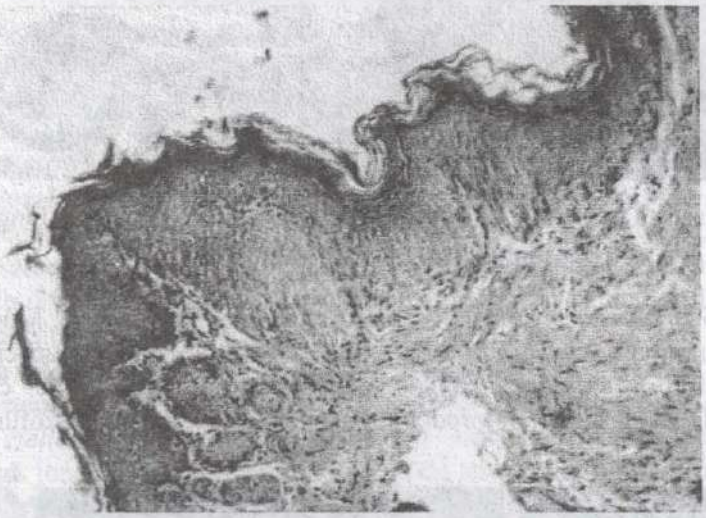


Fig. 3: Gastrită cronică activă cu *Helicobacter pylori*. Eroziuni şi ulceraţii ale epiteliului superficial.

În acest mod, epiteliul superficial apare degenerat şi/sau regenerativ. Regenerarea celulelor epiteliale creează *excrescenţe polipoide* sinciţiale. În regiunea coletului glandular, mucusul este produs în exces, iar fenomenul proliferativ se extinde pentru a înlocui celulele distruse. Proliferarea celulară de la nivelul coletului determină structuri alungite, deformate, tubulare şi pseudopapilare (Fig.4). Regenerarea foveolară poate să se prezinte histologic prin diminuarea mucosecreţiei, prin bazofilia citoplasmatică ca şi printr-un număr mare de mitoze cu nuclei hipercromatici; aspect care mimează displazia epitelială sau carcinomul *in situ*.

Fig. 4: Gastrită cronică activă cu *Helicobacter pylori*. Structuri alungite deformate, tubulare, pseudopapilare (HE – 10x)

Gastrita acută difuză evoluează spre inflamație cronică. Mucoasa apare de grosime normală sau ușor lărgită datorită infiltratului cu leucocite (în special mononucleare). Deşi neutrofilele persistă şi în inflamațiile cronice, totuşi limfocitele şi plasmocitele predomină alături de eozinofile, bazofile, mastocite şi macrofage (Fig. 5).

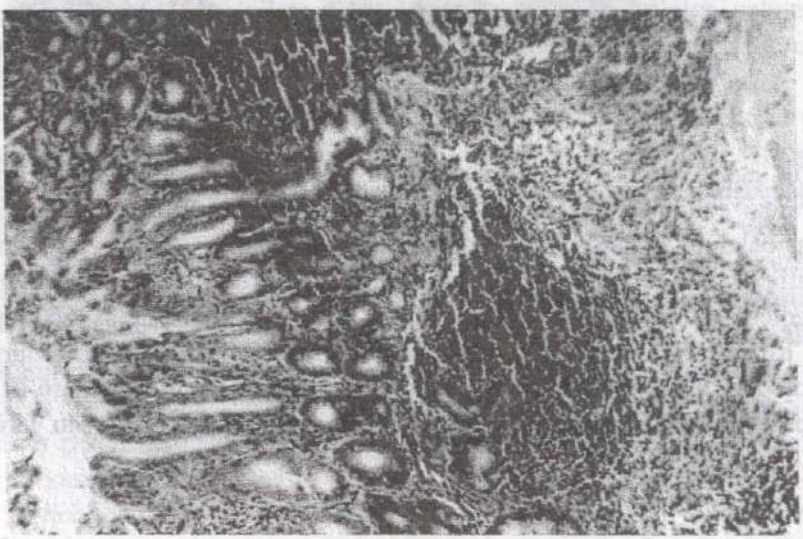


Fig. 5: Gastrită cronică activă cu *Helicobacter pylori* – diminuarea mucosecreției în epiteliul criptal, aflux de PMN, descuamări ale celulelor foveolare şi foliculi.

Helicobacter pylori se deplasează de-a lungul membranelor celulare laterale ale celulelor faveolare, slăbind integritatea barierei mucoasei. Prin spațiile intercelulare lărgite (în fazele avansate) pătrund polimorfonuclearele neutrofile ce determină un răspuns inflamator intens. De asemenea, *Helicobacter pylori* alterează eliberarea mucinei în lumenul gastric, iar proteazele produse de *Helicobacter pylori* lizează în continuare stratul protector epitelial prin digestia mucinei gastrice. Distrugerea barierei mucoasei determină lezarea şi chiar ulceraţia prin retrodifuziunea ionilor de hidrogen din lumen în mucoasă.

Atât neutrofilele cât şi *Helicobacter pylori* distrug epiteliul, determinând tumefierea şi vacuolizarea citoplasmei, diminuarea mucosecreţiei eroziunea polului apical al celulelor şi descuamarea celulelor foveolare superficiale. Migrarea transepitelială a neutrofilelor prin distrugerea joncţiunilor interepiteliale facilitează şi aportul de antigen bacterian, ceea ce va stimula răspunsurile specifice ale limfocitelor B şi T.

Dacă neutrofilele sunt prezente concomitent cu infiltratul inflamator cronic, se utilizează termenul de "gastrită cronică activă". În formele severe, neutrofilele se acumulează în lumenul criptelor formând abcese criptice. Unul din aspectele interesante ale acestui studiu l-a constituit evidenţierea detaşării unor porţiuni variabile din mucoasa apicală, ceea ce duce la rărirea sau chiar dispariţia microvililor pe porţiuni întinse.

În urma ataşării *Helicobacter pylori* la mucoasa gastrică se produce colonizarea acesteia caracterizată prin mai multe *modificări ultrastructurale.* În situaţiile când *Helicobacter pylori* se găseşte în număr mare, se localizează preferenţial lângă joncţiunile intercelulare, în aceste zone microvilii celulelor de suprafaţă fiind rari, foarte scurţi sau absenţi. Zona apicală a acestor celule are un aspect proeminent, sub formă de cupolă, iar spaţiul intercelular este lărgit. Aceste zone sunt limitate la aria de mucus apical, fără a se extinde şi la nivelul marginilor laterale profunde. Când celulele epiteliale sunt sever alterate, complexele joncţionale nu mai pot fi identificate.

Celulele mucoase de suprafaţă, din vecinătatea lui *Helicobacter pylori* suferă variate modificări degenerative cum ar fi: pierderea microvililor, edem celular, depleţia granulelor de mucus, apariţia intracitoplasmatică a vacuolelor degenerative şi protruzii citoplasmatice (Fig. 6).

În afară de acest proces de detaşare a mucusului se mai observă în unele celule şi o elongare marcată a citoplasmei apicale cu dispariţia granulelor de mucus.

Pierderea zonei de mucus apical induce severe modificări degenerative la nivelul acestor celule care devin mult mai vulnerabile la atacul factorilor agresionali cum ar fi acidul clorhidric, acest proces conducând la formarea unei eroziuni în mucoasa infectată cu *Helicobacter pylori.*

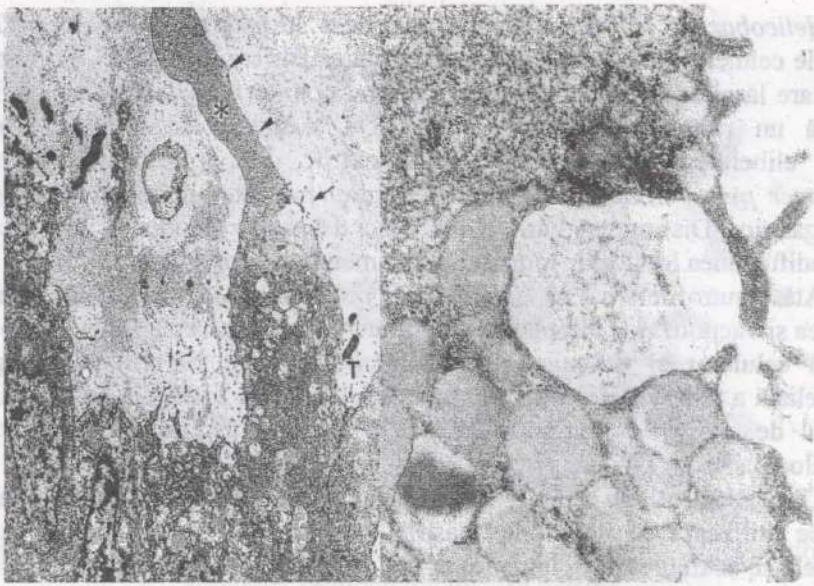


Fig. 6: Modificările degenerative suferite de celulele mucoase de suprafață, din vecinătatea lui *Helicobacter pylori*: pierderea microvililor, depleția granulelor de mucus, apariția intracitoplasmatică a vacuolelor degenerative și protruzii citoplasmatice (după T.Ogata and K.Araki, 1996)

Celulele mucoase de suprafață, din vecinătatea lui *Helicobacter pylori* au suferit variate modificări degenerative cum ar fi: pierderea microvililor, edem celular, depleția granulelor de mucus precum și apariția intracitoplasmatică a vacuolelor degenerative. Comparativ cu aspectele microvililor din mucoasa normală, în cazul infecției cu *Helicobacter pylori* aceștia sunt foarte rari, foarte scurți sau chiar absenți în unele regiuni ale suprafeței apicale.

În cazul ulcerului gastric cronic se constată existența a două tipuri de epitelii de regenerare:

- tipul gastric de epiteliu regenerativ ce se extinde de la nivelul epiteliului gastric spre marginea leziunii ulceroase.
- tipul intestinal se extinde de la nivelul unei arii de metaplazie intestinală spre marginea ulcerului.

Aceste date arată că *Helicobacter pylori*, pe lângă faptul că induce depleția mucusului și degenerarea celulelor mucoase, împiedică procesul de reparare a defectului mucoasei de către epiteliul regenerativ. Deci, eradicarea *Helicobacter pylori* ar proteja celulele mucoase de suprafață și epiteliul regenerativ și consecutiv ar facilita tratamentul ulcerului gastric. *Eradicarea infecției în urma terapiei duce la stoparea acestor anomalii structurale și secretorii.*

Aproximativ 80-90% din ulcerele gastrice benigne apar pe fond de gastrită atrofică multifocală (GAM). Majoritatea ulcerelor gastrice cronice dezvoltate pe

fond de GAM sunt leziuni solitare focalizate pe mica curbură a antrului, la 2 cm de zona de tranziţie spre corp. Ulcerele benigne măsoară mai puţin de 4 cm în diametru, sunt rotunde sau ovale, net delimitate, cu pereţi perpendiculari şi baza curată, dacă nu sunt complicate cu hemoragie.

Asocierea gastritei antrale difuze determinată de *Helicobacter pylori* cu ulcerul duodenal reprezintă o entitate clinică întâlnită destul de frecvent.

Date recente (Tytgat, 1995) au arătat că numai 10% dintre bolnavii cu infecţie cu *Helicobacter pylori* au ulcer duodenal. Boala ulceroasă este multifactorială la care se adaugă şi efectul conjugat al infecţiei cu *Helicobacter pylori*. Practic, toţi bolnavii cu ulcer duodenal au gastrită antrală difuză cu *Helicobacter pylori* (rar ulcerele duodenale sunt asociate cu sindrom Zollinger-Ellison sau după administrarea medicamentelor antiinflamatorii non-steroide).

Mai multe mecanisme ar putea explica leziunile mucoasei induse de infecţia cu *Helicobacter pylori*:

- producerea de amoniac de către urează,
- factori chemotactici,
- citotoxine vacuolizante,
- protaze, lipaze şi fosfolipaze A_2.

Helicobacter pylori colonizează în special antrul, determinând o reacţie inflamatorie mai activă şi intensă (Madsen şi colab., 1991, Satoh şi colab., 1991). Leucocitele sunt atrase la locul lezat, unde eliberează apoi citokine şi radicali liberi de oxigen. Gradul infecţiei cu *Helicobacter pylori* şi severitatea infecţiei mucoasei se corelează direct cu importanţa infiltratului cu neutrofile.

Recent, unele studii (Crabtree, 1998) au arătat că răspunsul limfocitelor T helper (Th) în infecţia cu *Helicobacter pylori* cronică au un profil Th_1 caracterizat prin celule efectoare gamma-Interferon (gamma-IFN). În momentul răspunsului primar, calea de diferenţiere a limfocitelor T naive este influenţată de producerea de către mucoasă de cantităţi mari de IL-12, o citokină ce stimulează producerea subtipului de celule Th_1. IL-12, concomitent, va stimula celulele NK pentru producerea de gamma-IFN, astfel răspunsul mediat celular cu Th_1 şi NK poate leza mucoasa.

Bolnavii cu ulcer duodenal au gastrită antrală cu o reacţie inflamatorie mai intensă decât la bolnavii fie cu ulcer gastric, fie fără ulcer (Rauws and Tytgat 1992, Alpert şi colab., 1989, Bayerdorffer şi colab., 1992, Fiocca şi colab., 1992). Astfel, se consideră că, la bolnavii cu ulcer duodenal, porţiunea acido-secretantă a stomacului este relativ rezistentă la infecţie pentru că în această regiune există un mediu hiperacid ostil care împiedică colonizarea *Helicobacter pylori* în corpul gastric (Bayerdorffer şi colab., 1992). În acest mod, capacitatea de a produce cantităţi importante de secreţie acidă ar putea să explice modificările variate ca răspuns la infecţia cu *Helicobacter pylori* atât la nivel gastric, ca inflamaţia antrală, cât şi la nivel duodenal, unde există focare de metaplazie gastrică.

În rezumat, infecţia cronică cu *Helicobacter pylori*, cu leziuni de gastrită predominant antrale asociază în legătură cu statusul hipergastrinemic o creştere a secreţiei acide. Starea hipersecretorie acidă reprezintă condiţia determinantă în

inițierea proceselor de metaplazie gastrică (indicele de metaplazie gastrică este corelat cu nivelul secreției acide gastrice) care asigură colonizarea bulbară cu *Helicobacter pylori*.

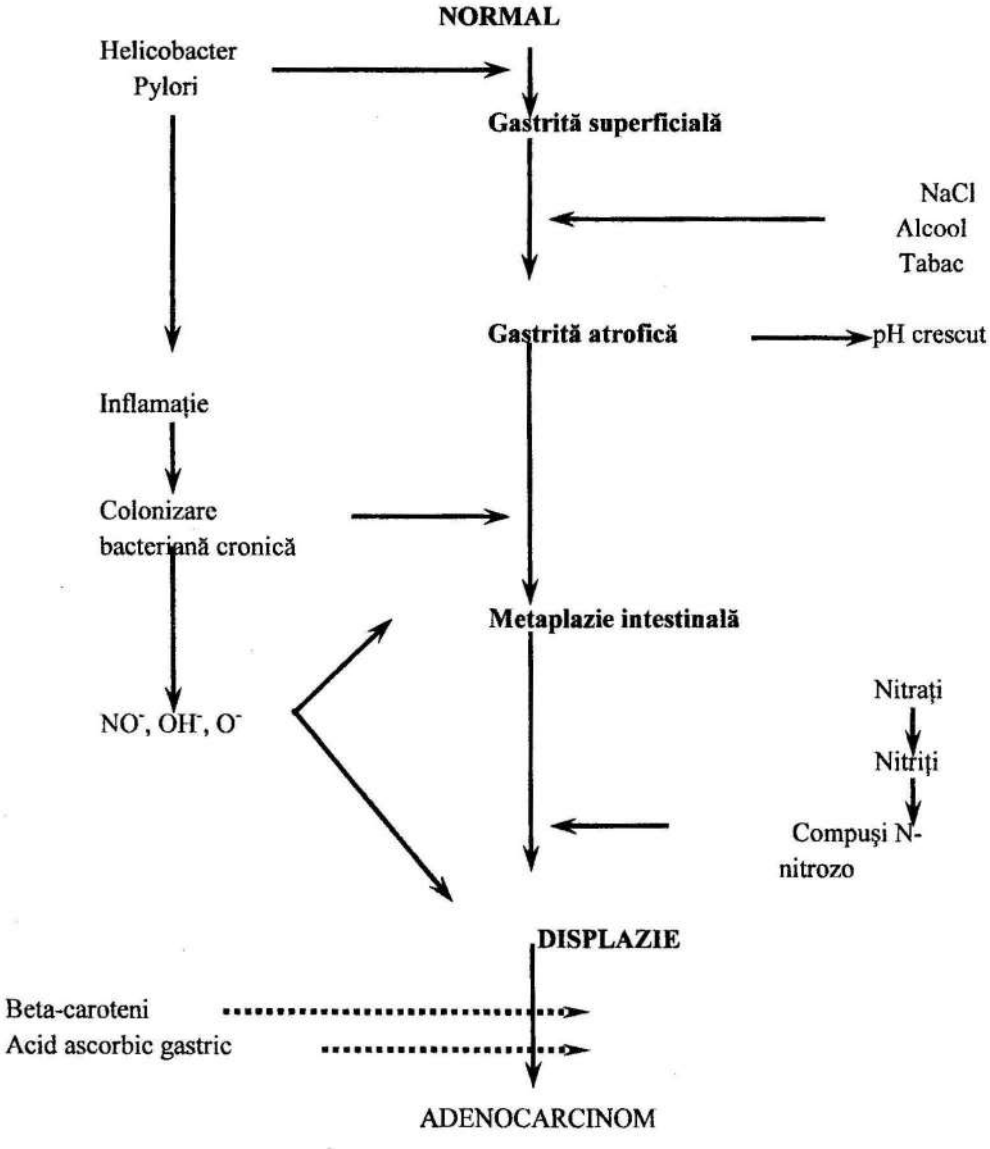


Fig. 7. Modelul actual al patogenezei cancerului gastric

Colonizarea bulbară a *Helicobacter pylori* induce procese de duodenită cronică, vulnerabilizează mucoasa la acţiunea clorhidropeptică (acid clorhidric - pepsină) şi biliară şi conduce la dezvoltarea leziunii ulceroase; în context, ulcerul duodenal, ca leziune dezvoltată pe insule metaplazice, apare ca "ulcer gastric". În final, infecţia directă cu *Helicobacter pylori* a epiteliului duodenal cu metaplazie gastrică ar putea constitui o etapă iniţială a ulcerului peptic (Forman, Newell, 1991, Wyatt şi colab., 1993, Dixon, 1996).

Deşi infecţia cu *Helicobacter pylori* nu constituie un carcinogen direct, ea ar putea facilita carcinogeneza prin:

- metaplazia intestinală,
- proliferarea celulară excesivă (Abdel-Wahab, 1997, Murakama, 1997);
- hipoclorhidria (favorizează multiplicarea excesivă a bacteriilor anaerobe) care transformă nitriţii din dietă la compuşi N-nitroso carcinogenici;
- inflamaţia acută, care generează radicali liberi;
- secreţia scăzută sau oxidarea intensă a compuşilor antioxidanţi.

În patogeneza carcinomului gastric de tip intestinal este inclusă transformarea progresivă a ariilor de metaplazie intestinală rezultată din infecţia cu *Helicobacter pylori*. Astfel, ariile de metaplazie intestinală cu producerea de sulfomucine, reprezintă un precursor selectiv care ajunge la displazie intestinală.

Rolul infecţiei cu *Helicobacter pylori* în producerea bolii ulceroase este atât de important încât gastroenterologii par să fi uitat legea lui Schwartz "No acid, no ulcer" şi au adoptat una nouă *"No Helicobacter, no ulcer"*. Şi totuşi, *Helicobacter pylori* a stat liniştit în stomacul omului de-a lungul a mii de ani, iar astăzi, prezent la jumătate din populaţia globului, nu pare să producă nici un rău la majoritatea celor infectaţi.

Principii fiziopatologice de tratament

Eradicarea infecţiei cu *Helicobacter pylori* este dificilă, antibioticele penetrând greu în mucoasa gastrică, iar mediul acid diminuând acţiunea lor. Cercetările din ultimii ani au făcut ca tratamentul infecţiei cu *Helicobacter pylori* să se perfecţioneze mereu. Dificil de eradicat din multiple cauze, tratamentul infecţiei cu *Helicobacter pylori* trebuie să aibă în vedere următoarele elemente:

- *Helicobacter pylori* se cantonează în stratul de mucus (nişa ecologică) unde este inaccesibil atât anticorpilor sistemici cât şi celor din lumenul gastric,
- răspunsul imunologic faţă de infecţia cu *Helicobacter pylori* este ineficient în eradicare,
- majoritatea antibioticelor acţionează la un pH neutru, ori în cavitatea gastrică pH-ul este acid,
- evacuarea gastrică accelerată scade eficienţa tratamentului local, posibilitatea de reinfecţie după eradicare este semnificativă.

Întâlnirea experţilor de la Maastricht din septembrie 1996, reunind 63 de specialişti din 19 ţări europene, cu observatori din Canada, Japonia, SUA, a ajuns

la un consens privind tratamentul infecției cu *Helicobacter pylori*. Raportul Consensului de la Maastricht, reconfirmat la Roma în 1999, a urmărit alegerea unui tratament care să aibă triplu scop:

1. Să accelereze procesul de vindecare,
2. Să prevină recidivele și complicațiile majore,
3. Să scadă rata indicațiilor tratamentului chirurgical.

În același timp, tratamentul trebuie să fie bine tolerat de bolnav, ușor de urmat, cu un bun raport cost-eficiență și o rată de eradicare de peste 80%.

Tratamentul infecției cu *Helicobacter pylori* a cunoscut etape succesive și remanieri continue până la schemele actuale, care probabil nu vor fi ultimele.

Inițial, fiind vorba despre o infecție bacteriană, au fost folosite numai antibiotice din diverse clase, dar cu rezultate modeste (eradicare 18-25%); amoxicilina, tetraciclina, metronidazolul, eritromicina și claritromicina au fost antibioticele cele mai utilizate. S-a observat că după tratament poate rămâne un număr redus de baterii în mucus, suficient pentru a recoloniza rapid stomacul. În plus, se știe că numai un număr redus de antibiotice poate penetra mucusul gastric. Din aceste motive, tratamentul numai cu antibiotice a fost considerat ineficient și a determinat introducerea în practica medicală a asocierilor medicamentoase, cu rate mai mari de eradicare. Astfel, prin adăugarea unui inhibitor al secreției gastrice, procentul de eradicare a crescut la 82-94%, ceea ce demonstrează caracterul indispensabil al tratamentului antisecretor (efectul antibacterian al antibioticelor este optim la un pH de 5-7).

Dubla terapie, puțin utilizată astăzi, folosește, pe lângă unul dintre antibioticele menționate, și un inhibitor al pompei de protoni (IPP) cum ar fi omeprazolul, lansoprazolul sau pantoprazolul.

Influența omeprazolului asupra *Helicobacter pylori* poate fi directă prin inhibarea ureazei (efect anti *Helicobacter pylori in vitro*) sau indirectă prin următoarele mecanisme:

- neutralizarea mediului intragastric, favorizând acțiunea antibioticelor (care sunt active în mediu neutru),
- reducerea volumului total al secreției gastrice care determină creșterea concentrației antibioticului în lumenul gastric,
- reducerea acidității gastrice care favorizează proliferarea altor microorganisme ce intră în competiție cu *Helicobacter pylori*.

Rata de eradicare prin această metodă este de aproximativ 75%, avantajele constând într-o posologie simplă, cu o complianță bună și rezistență la antibiotice nerelevantă.

În dorința obținerii unei rate de eradicare superioară (90-95%) s-a introdus în practică *tripla terapie* bazată pe un antisecretor (inhibitor de pompă de protoni) și două antibiotice în combinații variate, cele mai utilizate fiind următoarele:

- amoxicilina – antibiotic bine tolerat, care nu dezvoltă rezistență,
- metronidazolul – chimioterapic eficient, care deși dezvoltă rezistență, în asociere cu alte antibiotice este extrem de valoros deoarece acționează și la un pH acid,

- claritromicina – din clasa macrolide, se concentrează eficient în mucoasa gastrică, fiind considerat cel mai bun antibiotic disponibil în prezent (singurele dezavantaje sunt costul ridicat şi dezvoltarea rezistenţei).

Durata optimă a triplei terapii este discutabilă, ea variind între 7 sau 10 zile. În prezent se consideră că terapia optimă (standardul de aur în tratamentul de eradicare al *Helicobacter pylori*) este:

IPP+2 antibiotice timp de 1 săptămână.

Experienţa acumulată de gastroenterologi, acumulată în ultimii ani a permis scurtarea schemei de tratament la cel mult 7 zile, cu rezultate bune. S-au folosit şi scheme de tratament cu o durată de numai 4 zile, cu rezultate bune privind raportul cost / eficienţă, dar cu procentaj mare de recădere la 6 luni.

- *Claritromicină* 0,250 g de 2 ori pe zi şi
- *Amoxicilină* 0,500 g de 2 ori pe zi

La care s-a asociat un IPP:

- *Famotidină* 40 mg/zi sau *Ranitidină* 150 mg/zi în cazul tinerilor sub 20 ani, iar pentru persoanele cu vârsta peste 20 ani s-a administrat
- *Omeprazol* 20 mg/zi.

Durata tratamentului a fost de 7 zile.

Trebuie menţionat că bolnavii cu ulcer duodenal complicat, ulcer gastric, tratament continuu cu antiinflamatorii nesteroidiene, beneficiază, după terminarea tratamentului de eradicare, de tratament antisecretor (IPP 20 mg sau ranitidină 150 mg sau famotidină 20 mg) încă 21 de zile. Bolnavii trebuie supravegheaţi doar pentru depistarea reinfecţiei care poate fi de 1 - 4%.

În privinţa tratamentului de eradicare a infecţiei cu *Helicobacter pylori*, trebuie reţinute mai multe aspecte:

- tratamentul de eradicare se instituie, de primă intenţie, în toate cazurile de boală ulceroasă complicată sau necomplicată, după evidenţierea bacteriei,
- eradicarea infecţiei cu *Helicobacter pylori* este eficace când bolnavii rămân asimptomatici timp de 3 - 6 luni după tratament,
- limitarea tratamentului antisecretor numai la durata tratamentului de eradicare în ulcerele duodenale necomplicate (atunci când sunt folosite scheme de tratament cu eradicare mai mare de 80%),
- eradicarea infecţiei cu *Helicobacter pylori* modifică evoluţia naturală a ulcerului peptic prin reducerea riscului recidivelor pe termen lung şi prevenirea complicaţiilor,
- eradicarea infecţiei cu *Helicobacter pylori* accelerează vindecarea ulcerului duodenal, vindecă ulcerele duodenale refractare la antisecretorii, ameliorând semnificativ calitatea vieţii bolnavului,
- apariţia reinfecţiei precoce cu *Helicobacter pylori* atestă o eradicare incompletă a infecţiei,
- recidiva ulcerului la distanţă de eradicarea infecţiei este determinată, cel

mai frecvent, de o reinfecţie cu *Helicobacter pylori* sau consum de antiinflamatorii nespecifice; în absenţa celor două cauze trebuie suspicionată existenţa unui sindrom Zollinger – Ellison,

Concluzii

Tratamentul de eradicare al infecţiei cu *Helicobacter pylori* a condus la creşterea ratei de vindecare, reducerea recurenţelor şi a complicaţiilor majore precum şi la limitarea indicaţiilor tratamentului chirurgical. Toate acestea deschid noi perspective ale tratamentului cu antibiotice în general şi cu macrolide în special. Deşi controversată, concepţia conform căreia este necesară eradicarea infecţiei cu *Helicobacter pylori* chiar în absenţa oricărei suferinţe digestive, ea trebuie adoptată şi aplicată deoarece numai aşa poate fi scăzut riscul de cancer gastric, având în vedere că această bacterie este considerată carcinogen de categoria întâia.

Bibliografie

1. ASNAES S., BJERREGAARD B., MALMSTROM J., HANSEN O.M., HARDT F., MOHANSEN A.: Antral gastrin cells. Scand. J. Gastroenterol., 1996, 11, 471-474.
2. BĂDESCU M, CIOCOIU M, Compendiu de fiziopatologie specială, Ed.Vasiliana, 2001.
3. BLASER, M.J. and PARSONNET, J.: Parasitism by the `slow' bacterium *Helicobacter pylori* leads to altered gastric homeostasis and neoplasia. Journal of Clinical Investigations,1994, 94, 4-8.
4. BLASER M.J. - *Helicobacter pylori:* balance and imbalance. Eur.J. Gastroenterol. Hepatol., 1998, 10, suppl. 1, S.15-18.
5. BLASER M.J. - *Helicobacters* are indigenous to the human stomach: duodenal ulceration is due to changes in gastric microecology in the modern era. Gut, 1998, 43, 721-727.
6. BORDI C., PILATO F., CARFAGNA G., FERRARI C., D'ADDA T., SIVELLI R., BER T ELE A., MISSALF G.: Argyrophil cell hyperplasia of fundic mucosa in patients with chronic atrophic gastritis. Digestion, 1996, 35, 130-143.
7. CALAM J., TAYLOR I.L., DOCKRAY G.J., SIMKIN E., COOKE A., RUTTER TI., SAMLOFF J.M.: Sub-group of duodenal ulcer patients with familial G-cell hyperfunction and hyper-pepsinogenaemia, I. Gut, 1999, 20, 934-940.
8. CELLINI, L., ALLOCATI, N., PICCOLOMINI, R., DI CAMPLI., E. and DAINELLI, B.: *New plate medium for growth and detection of urease activity of Helicobacter pylori.* Journal of Clinical Microbiology, 1992, 30, 1351-1353.
9. COTRUTZ ELENA-CARMEN, C.COTRUTZ, Celulele entero-endocrine, trecut, prezent, viitor, Ed.Apollonia, Iaşi, 1998.
10. CRABTREE J.E. - The host inflammatory response to *Helicobacter pylori.* Eur. J. Gastroenterol. Hepatol., 1998, 10, suppl. 1, 139 -146.
11. CREUTZFELDT W., ARNOLD R., CREUTZFELDT C., FEURLE G., KETTERER H.: Gastrin and G. Cells in the antral mucosa of patients with pernicious anaemia, acromegaly and hyperparathyroidism and in a Zollinger Ellison tumour of the pancreas. Eur. J. Clin. Invest., 1991, 1, 461-479.
12. D'ELIOS M.M., ANDERSEN L.P., DEL PRETE G. - Inflammation and host response. Current Opinion în Gastroenterology, 1998, suppl. 1, S15-19.
13. DIXON M.F., LEE A., VELDHUYZEN VAN ZANTEN S.J.O. - Peptic ulcer disease - the

transitional zones are important. în: Hunt R.H., Tytgat G.N.J. - Basic Mechanisms to Clinical Cure 2000, Boston, 2000, 327-338.
14. DORVAL E.D. - Role of *Helicobacter pylori* in the pathogenesis of chronic gastritis and peptic ulcer disease. Gastroenterol. Clin. Biol., 1996, 20, 1, S22-26.
15. EATON, K.A., CATRENICH, C.E., MAKIN, K.M. and KRAKOWKA, S.: Virulence of coccoid and bacillary forms of *Helicobacter pylori*. Journal of Infectious Diseases 1995, 171, 459 462.
16. FORMAN, D., NEWELL, D.G., FULLERTON, F., YARNELL, J.W.G., STACEY, A.R., WALD, N. and SITAS, F. Association between infection with *Helicobacter pylori* and risk of gastric cancer: evidence from a prospective investigation. British Medical Journal, 1991, 302, 1302-1305.
17. GOODWIN, C.S., ARMSTRONG, J.A. and MARSHALL B.J.: *Campylobacter pyloridis,* gastritis and peptic ulceration. Journal of Clinical Pathology,1986, 39, 353-365.
18. GRAHAM, D.Y., LEW, G.M., KLEIN, P.D., EVANS, D.G., EVANS, D.J., SAEED, Z.A. and MALATY, H.M.: Effect of treatment of *Helicobacter pylori* infection on the long-term recurrence of gastric or duodenal ulcer. Annals ol Internal Medicine 1992, 116, 705-708.
19. HĂULICĂ I., Fiziopatologie umană., Ed.Medicală, Bucureşti , 1997.
20. KEUPPENS F., WILLENS G., DEGRAEF J., WOUSSEN-COLLE M.C.: Antral gastrin cell hyperplasia in patients with peptic ulcer. Ann. Surg., 1980, 197, 276-281.
21. LEHY T., GRES L., FERREIRA DE CASTRO E.: Quantitation of gastrin and somatostatin cell populations in the antral mucosa of the rat. Cell Tissue Res., 1989, 198, 325-333.
22. MALFERTHEINER P., MIEHKE S.: *Helicobacter pylori* Infection in Ulcer Pathogenesis, Digestion, 1997, 5S (suppl), 17-20.
23. MARCHINI, A., D'APOLITO, M., MASSARI, P., ATZENI, M., COPASS, M. and OLIVIERI, R.: Cyclodextrins for growth of *Helicobacter* pylori and production of vacuolating cytotoxin. Archives of Microbiology 1995,164, 290-293.
24. MURAYAMA M., IMAI T., KIKUCHI M.: Solid carcinomas of the stomach. A combined histochemical light and electron microscopic study. Cancer, 1997, 51, 1673-1681.
25. MORGAN D.R., FREEDMAN R., DEPEW C.E. and KRAFT W.G.: Growth of *Campylobacter pylori* in liquid media. Journal of Clinical Microbiology,1997, 25, 2123-2125.
26. NOMURA A., STEMMERMANN G.N., CHYOU P.H., KATO I., PEREZPEREZ G.I. and BLASER M.J.: *Helicobacter pylori* infection and gastric carcinoma among Japanese Americans in Hawaii. New England Journal of Medicine, 2001, 325, 1132-1136.
27. OGATA M., ARAKI K. Electron microscopic study of the morphological changes of gastric mucous cell induced by *Helicobacter pylori* in human gastric ulcers, J.Submicrosc. Cytol. Pathol, 1996, 28, (2), 255-264.
28. OGATA M., ARAKI K., OGATA T., An electron microscopic study of *Helicobacter pylori* in the surface mucous gel layer, Histol.Histopathol,1998,13:347-358.
29. RAUWS E.A.J. and TYTGAT G.N.J.: Cure of duodenal ulcer associated with eradication of *Helicobacter pylori.* Lancet ,1990, 335, 1233-1235.
30. STANCIU C. *Helicobacter pilory*, Edit Dan, Iaşi, 2001.
31. UPAS J.L., WEISS A.M., CAPRON J.P., BROUSSE N., VOILLEMOT N., ACCARY J.P., POTET F.: Evaluation quantitative, sur biopsies endoscopiques des cellules a gastrine dans la gastrine antrale. Gastroenterol. Clin. Biol., 2000, 4, 681-685.
32. WALSH E.J., MORAN A.P.: Influence of medium composition on the growth and antigen expression of *Helicobacter pylori,* Journal of Applied Microbiology, 1999, 83, 67-75.
33. XIA H.X., KEANE C.T., CHEN J., ZHANG J., WALSH E.J., MORAN A.P. et al.: Transportation of *Helicobacter pylori* cultures by optimal systems. Journal of Clinical Microbiology, 1994, 32, 3075-3077.

FLUOROCHINOLONELE ÎN TRATAMENTUL ENDOCARDITELOR BACTERIENE

D. Leca, D. Teodor, A. Ciobanu, Elena Miftode,
Cătălina Luca, Florica Dănilă, A. Teodor
Universitatea de Medicină şi Farmacie „Gr.T. Popa", Iaşi
Clinica de Boli Infecţioase

Abstract
To study the effectiveness of the fluoroquinolones in bacterial endocarditis.
Methods: we studied 19 patients (14 males, 5 females, 5 to 65 years), diagnosticated with bacterial endocarditis in Universitary Hospital of Infectious Diseases Iasi, from 1998 to 2002. The immunocompromise host was in 8 cases, heart disease in 8 cases. Etiology was established in 12 situations, being *Staphylococcus spp.* in 8 cases, *Streptococcus spp.* in 2 cases. The site of entry was skin, the lesions was aorta valve in 14 patients and mitral in 5 patients. The diagnostic was supported by Duke major criteria in 7 cases and in 8 cases using association of minor criteria.
The fluoroquinolones was the first choice in 9 situations and in 6 for the second choice. The treatment was administrated in bitherapy in 11 cases, tritherapy in 4 cases and none in monotherapy.
The course was good in 78,10%, 8 patients need remove therapy for different reasons: maintaining fever, developing complications. The mortality was 4/19 cases. The complications were determinated by heart (10 patients), lung (9 patients), kidney (6 patients), meningeal (2 patients) and one with joint determinations. The side effects of fluoroquinolones was hard to relief because of the severity of the diseases, however fluoroquinolones were in charge in 6 patients with nausea, 2 patients with rash and 2 patients with itching.
Conclusions: Fluoroquinolones are effectiveness in treatment of bacterial endocarditis with sensitive germs, in associations with synergic antibiotics.

Introducere

Obiectivul antibioticoterapiei în endocarditele bacteriene este reprezentat de sterilizarea vegetaţiilor şi a altor focare infecţioase concomitente. Pentru realizarea acestuia este necesar în primul rând un demers diagnostic (identificarea agentului etiologic şi determinarea sensibilităţii sale *in vitro*) şi ulterior opţiunea terapeutică, ce constă în alegerea unor antibiotice bactericide, sinergice, care vor fi administrate în asociere, pe cale parenterală, într-un ritm dependent de tipul de

antibiotic utilizat (doză-dependent sau timp-dependent).

În ultimii ani, fluorochinolonele reprezintă o alternativă terapeutică interesantă pentru endocarditele bacteriene, dat fiind proprietăţile lor farmaceutice şi farmacodinamice.

În lucrarea de faţă, ne-am propus să analizăm eficienţa fluorochinolonelor în tratamentul a 19 cazuri de endocardită bacteriană.

Material şi metodă

Am efectuat un studiu retrospectiv care a cuprins 19 bolnavi cu endocardită bacteriană, internaţi în Clinica de Boli Infecţioase Iaşi, în perioada 1998-2002.

Rezultate

Pacienţii, 14 de sex masculin şi 5 de sex feminin, cu vârste cuprinse între 5 şi 65 de ani (3 copii şi 16 adulţi) s-au internat în clinică prin transfer din alte servicii în 12 cazuri şi de la domiciliu în rest, după 2-30 zile de la debutul bolii (media = 12,77 zile).

Boala a evoluat pe teren imunodeprimat în 8 cazuri (hepatită cronică în 5 cazuri, ciroză hepatică în 2 cazuri, diabet zaharat într-un caz), la pacienţi cu afecţiuni cardiace preexistente – tabel I.

Tabel I. Afecţiuni cardiace preexistente

Insuficienţă venoasă cronică	2
Insuficienţă cardiacă	1
Infactul miocardic acut	1
Dublă leziune aortică	2
Fibrilaţie atrială cronică	1
Defect septal atrial tip ostium secundum	1
Bicuspidie aortică	1
Dublă leziune mitrală	1

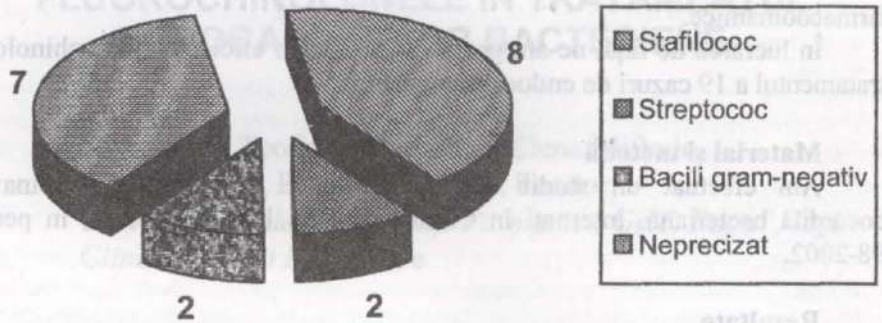
Etiologia a fost stabilită doar în 12 cazuri, fiind reprezentată de *Staphylococcus spp.* în 8 cazuri, *Streptococcus spp.* în 2 cazuri, bacili Gram-negativ în 2 cazuri (fig.1).

Diagnosticul pozitiv de endocardită s-a stabilit pe baza criteriilor Duke majore şi a celor minore – tabel II.

Poarta de intrare a fost predominant cutanată şi pulmonară (câte 6 cazuri) urmată de cea urinară, genitală, dentară (câte 2 cazuri) şi digestivă (un caz) – tabel III.

În majoritatea cazurilor, localizarea endocarditei a fost la nivelul valvei aortice (14 cazuri) şi mai puţin pe valva mitrală (4 cazuri) sau pe proteză mitrală (un caz).

Fig.1 Etiologia endocarditelor bacteriene



Tabel II. Diagnosticul pozitiv. Criterii Duke

Criterii majore-nr. bolnavi		Criterii minore – nr. bolnavi	
Hemocultura	7	Factori predispozanți cardiaci	7
Prezența vegetațiilor	7	Febră	19
		Fenomene vasculare	3
		Alte semne ecocardiografice evocatorii	3

Tabel III. Poarta de intrare în endocarditele bacteriene - în funcție de etiologie

Etiologie / Poarta de intrare	Stafilococ	Streptococ	Bacili Gram-negativ	Neprecizată	Total
Cutanată	6	-	-	-	6
Pulmonară	2	-	-	4	6
Urinară	-	-	2	-	2
Genitală	-	-	-	2	2
Dentară	-	2	-	-	2
Digestivă	-	-	-	1	1
Total	8	2	2	7	19

Fluorochinolonele, reprezentate de pefloxacină (13 cazuri) şi ciprofloxacină (6 cazuri) au fost administrate în cele mai multe cazuri în biterapie (11 cazuri), dar şi în triterapie (4 cazuri) sau biterapie, urmată de triterapie (4 cazuri), ca tratament de primă intenție în 12 cazuri, sau de a doua intenție în rest (7 cazuri) – tabel IV.

Tabel IV. Tratamentul cu fluorochinolone în endocarditele bacteriene

Schema de tratament	Primointenție	A doua intenție	Total
Biterapie	10	1	11
Triterapie	2	2	4
Biterapie, apoi triterapie	0	4	4
Total	12	7	19

Antibioticele utilizate pentru asociere au variat în funcție de etiologie (oxacilină, vancomicină, lincomicină, rifampicină în etiologia stafilococică, aminopeniciline în cea streptococică, cefalosporine III, aminoglicozide în endocarditele cu bacili Gram-negativ) sau de prezumția etiologică, ținând cont și de penetrabilitatea acestora la nivelul organelor cu determinări septice secundare.

Sub tratament cu fluorochinolone, evoluția a fost favorabilă în 15 cazuri, cu normalizarea parametrilor clinico-biologici după 2-3 săptămâni, în funcție de etiologie, mai rapid în cea streptococică și mai tardiv în endocardita cu bacili Gram-negativ. – tabel V.

Tabel V. Normalizarea parametrilor clinico-biologici ai pacienților cu endocardite bacteriene, tratați cu fluorochinolone

Durată medie Parametri	Etiologie				Total
	Stafilococ	Streptococ	Bacili Gram-negativ	Agent etiologic neprecizat	
Afebrilitate	15,8	12,5	19	13,2	14,93
Stabilitate hemodinamică	17	14,5	18,5	15,8	15,87
Negativarea hemoculturilor	18,5	14	18,5	17,5	17,47

Complicațiile cardiace au apărut în 10 cazuri, iar cele extracardiace în 11 cazuri, localizate la nivel pulmonar (9 cazuri), renal (6 cazuri), meningean (2 cazuri) sau articular (1 caz).

Remanierea terapiei cu fluorochinolone a fost necesară în 6 cazuri, datorită persistenței febrei (3 cazuri) sau apariției de complicații (3 cazuri).

Reacțiile adverse la fluorochinolone au fost dificil de apreciat, datorită severității bolii și intricării acestora cu simptomatologia de bază. Totuși, prezența greșurilor în 6 cazuri, a erupțiilor cu caracter alergic și a pruritului în câte 2 cazuri a fost considerată ca fiind în legătură de cauzalitate directă cu administrarea fluorochinolonelor.

S-au înregistrat 4 decese în endocardita stafilococică (2 cazuri) și cu agent etiologic neprecizat (2 cazuri).

Discuţii

Studiile pe animale cu endocardită experimentală corelate cu cele de farmacocinetică umană au arătat că fluorochinolonele realizează concentraţii la nivelul vegetaţiilor, care depăşesc CMB-ul a 90% dintre suşele celor mai importanţi patogeni valvulari, incluzând streptococii viridans, enterococii, MSSA şi MRSA şi *P.aeruginosa*. Aceste date, precum şi proprietăţi farmacodinamice, ca efectul bactericid rapid şi efectul postantibiotic prelungit, sugerează că fluorochinolonele cu t ½ prelungit pot fi utilizate în profilaxia şi tratamentul endocarditelor bacteriene. La aceste argumente se adaugă eficacitatea crescută *in vitro* a fluorochinolonelor asupra suşelor de *Enterobacter, Serratia,* şi *Pseudomonas* rezistente la betalactamine apărute în ultimii ani, unele dintre acestea cu rezistenţă încrucişată şi faţă de aminoglicozide.

Deşi experienţa clinică privind fluorochinolonele în endocarditele umane este relativ redusă, majoritatea studiilor arată că acestea pot fi utilizate în endocarditele cu enterobateriacee sensibile, ca alternativă pentru betalactamine, în cele determinate de piocianic- în asociere cu cefalosporine de generaţia a III-a (ceftazidima), în endocarditele cu stafilococ meti-S - în asociere cu vancomicină (1,2,3,5).

În Clinica de Boli Infecţioase Iaşi, am utilizat fluorochinolonele în terapia acestor infecţii, începând cu anul 1998, totalizând 19 bolnavi. Antibioticele administrate anterior internării în clinica noastră (ambulator sau în alte servicii) au redus rata documentării etiologice la 12 cazuri. Germenii izolaţi, reprezentaţi majoritar de stafilococul auriu meticilino-sensibil au fost sensibili la fluorochinolone şi nu au dezvoltat în cursul terapiei rezistenţă la aceste substanţe antimicrobiene.

În endocarditele cu hemoculturi negative, fluorochinolonele au fost asociate cu antibiotice sinergice în funcţie de prezumţia etiologică, rezultat al corelării unor factori precum poarta de intrare, terenul subjacent, determinările septice secundare.

Deşi severă, grefată de apariţia de complicaţii cardiace şi extracardiace în peste jumătate din cazuri, evoluţia a fost favorabilă în ¾ din cazuri, cu normalizarea parametrilor clinico-biologici după 2-3 săptămâni de tratament.

Accesibilitatea crescută la serviciul de chirurgie cardio-vasculară din Centrul de Cardiologie Iaşi a permis recuperarea completă a pacienţilor cu complicaţii cardiace şi a celor protezaţi valvulari.

Letalitatea, înregistrată într-un sfert din cazuri, predominant în etiologia stafilococică, a coincis cu cea raportată de majoritatea studiilor din literatură efectuate în ţări cu nivel socio-economic comparabil cu al României (5,6).

Fluorochinolonele au fost relativ bine tolerate în terapia acestor infecţii. Reacţiile adverse de intensitate minimă, fără a impune remanierea terapiei au fost semnalate într-o proporţie comparabilă cu cea raportată de alte studii (4). Acestea au fost reprezentate doar de manifestări digestive şi alergice, majoritatea dificil de

apreciat datorită intricării simptomatologiei de bază. Reacţii adverse cardiovasculare de tipul tulburărilor de ritm sau alungirii intervalului QT, cunoscute ca putând fi induse de fluorochinolone nu au fost semnalate, în relaţie de cauzalitate directă cu aceste substanţe antimicrobiene, aceste modificări reprezentând, de altfel, un criteriu de excludere pentru introducerea lor în terapia endocarditelor infecţioase.

Concluzii

Fluorochinolonele sunt eficace în tratamentul endocarditelor cu germeni sensibili, în asociere cu antibiotice sinergice. Evoluţia severă şi imprevizibilă, precum şi prognosticul sever impun o monitorizare atentă clinică şi paraclinică interdisciplinară.

Bibliografie

1. BRYSKIER A. Fluoroquinolones. In: Antibiotiques, agents antibactériens et antifongiques Ed. Ellipses, Paris 1999; 683-808
2. DEWACHTER P., PHELISSE F., VOIRIOT P., WEBER M., TRONEL H., DUREUX J.B. Efficacité comparative de l'ofloxacine, la ciprofloxacine, la péfloxacine et la vancomycine sur l'endocardite expérimentale à *Staphyloccoccus aureus* Méti S. Méd Mal Infect 1991; 21: 633-7.
3. ENA J., AMADOR C. Ciprofloxacin: an effective antibacterial agent in Serratia endocarditis. J Infect. 1991; 22: 103-5.
4. HOOPER D.C., WOLFSON J.S. Adverse effects of quinolones antimicrobial agents. in Quinolones antimicrobial agents. American Society for Microbiology Washington D.C. 1989; 249-71.
5. MUÑOZ P., BERENGUE J. Ciprofloxacin and endocarditis. Infect Dis in Clin Practice 1993; 2:119-22.
6. POPESCU G.A., POPESCU C. Endocardite infecţioase. Ed. Didactică şi Pedagogică Bucureşti, 1999.

EFICIENȚA FLUOROCHINOLONELOR ÎN TRATAMENTUL MENINGITELOR BACTERIENE

D. Leca, A. Latiş, Elena Miftode, D. Teodor, A. Teodor, A. Dănilă
Universitatea de Medicină şi Farmacie „Gr. T. Popa", Iaşi
Clinica de Boli Infecţioase

Abstract
Objectives: To study the effectiveness of fluoroquinolones in bacterial meningitis
Methods: We studied retrospectively 108 patients (76 males, 32 females, 7 months- 73 years) diagnosed with bacterial meningitis in Hospital of Infectious Diseases Iaşi, from 1997 until 2002.
Results: 30 patients were immunocompromised hosts. The etiology was established in 24 cases, being represented by *Staphylococcus spp.* in 13 cases, *Enterococcus spp.* in 1 case, GNB in 9 cases, anaerobes in 1 case.
In 46 cases, the meningitis followes neurosurgery, 16 cases were otogene and 15 posttraumatic. Low pleiocitosis of CSF was in 14 cases, middle pleiocitosis in 50 cases, and high in 44 cases; albuminorachia was high level in 102 cases, glicorachia was low in 75 cases.
Treatment with fluoroquinolones was the first choice in 96 cases and in 12 situations for the second choice, administered in monotherapy in 7 cases, bitherapy in 86 cases, tritherapy in 3 cases.
The course was good in 84 patients, 7 patients need remove therapy for different reasons: maintaining fever, developing complications and in 3 situations the antibiograme sensitivity was another.
The mortality rate was 11,11%. The complications were in 25,93% cases. The side effects of fluoroquinolones were in charge in digestive disturbance 12,96%, increase ALAT level in 1,85%, rash 2,78%, tachycardia in 1,85%, and depression in 1 case.
Conclusions: Fluoroquinolones are effectiveness in treatment of bacterial meningitis with sensitive germs, in association with synergic antibiotics.

Introducere

Meningitele purulente reprezintă prototipul urgenţelor terapeutice. Antibioticoterapia de primointenţie este în general prezumtivă. Alegerea acesteia presupune cunoaşterea datelor epidemiologice, a agenţilor etiologici cel mai frecvent implicaţi şi a sensibilităţii lor la antibiotice, precum şi a prognosticului, date care condiţionează durata terapiei şi supravegherea ulterioară.

Introduse în practica terapeutică de aproape două decenii, în România după

1990, utilizarea fluorochinolonelor a crescut exploziv în ultimii ani, în infecţii cu variate localizări, datorită proprietăţilor bacteriologice, farmacocinetice şi farmacodinamice superioare, dar şi apariţiei de germeni multirezistenţi la antibioticele considerate „clasice".

Scopul acestei lucrări este aprecierea eficienţei fluorochinolonelor în tratamentul meningitelor bacteriene.

Material şi metodă

Am efectuat un studiu retrospectiv, care a inclus 108 bolnavi cu meningită bacteriană, internaţi în Clinica de Boli Infecţioase Iaşi în perioada 1997-2002, care au fost trataţi cu fluorochinolone.

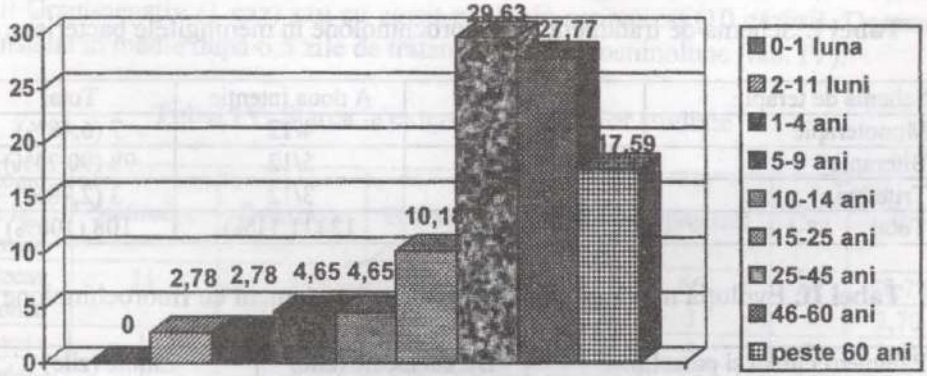
Rezultate

Pacienţii, 76 bărbaţi (70,37%) şi 32 de femei (29,63%), aveau vârste cuprinse între 9 luni şi 73 de ani, cele mai multe cazuri aparţinând grupei de vârstă 26-45 ani şi respectiv 46-60 ani. Fig 1.

Etiologia a fost stabilită doar în 24 de cazuri (22,22%), fiind reprezentată de stafilococ (13 cazuri- 12,04%), enterococ (1 caz- 0,93%), bacili Gram-negativ (9 cazuri- 8,33%), anaerobi (1 caz- 0,93%).

În 30 de cazuri (27,77%), meningita bacteriană a evoluat la pacienţi imunodeprimaţi (hepatită cronică: 12 cazuri, diabet zaharat: 5 cazuri, neoplasm: 8 cazuri, boli hematologice: 2 cazuri, colagenoze: 3 cazuri).

Fig. 1. Repartiţia bolnavilor pe grupe de vârstă



Apariţia bolii a fost postoperatorie în 46 de cazuri – 42,59% (pentru tumori cerebrale în 23 de cazuri, malformaţii vasculare cerebrale în 6 cazuri, hematom intracerebral în 8 cazuri, hidrocefalie în 9 cazuri), otogenă în 16 cazuri (14,81%) şi posttraumatică în 15 cazuri (13,89%).

Simptomatologia a fost reprezentată de febră, prezentă în toate cazurile, cefalee în 104 cazuri, vărsături în 47 cazuri, sindrom de contractură meningeană în

83 cazuri, tulburări de conştienţă în 64 cazuri, convulsii în 11 cazuri, tulburări de vorbire în 31 cazuri, paralizii în 56 de cazuri, tulburări de ritm respirator în 18 cazuri, tulburări de ritm cardiac în 10 cazuri şi tulburări de vedere în 13 cazuri.

Examenul LCR a evidenţiat pleiocitoză redusă în 14 cazuri (12,96%), moderată în 50 de cazuri (46,30%) şi crescută în 44 cazuri (40,74%). Albuminorahia a prezentat în majoritatea cazurilor (88 cazuri - 81,48%) valori cuprinse între 1-3 g/l şi în proporţie mai redusă, valori cuprinse între 0,5 -1 g/l (8 cazuri -7,41%) şi peste 3 g/l (12 cazuri -11,11%). Glicorahia a fost scăzută în 75 de cazuri (69,44%) şi normală în 33 cazuri (30,55%), iar clororurorahia – redusă în 100 cazuri (92,59%) şi normală în rest (8 cazuri- 7,41%).

Fluorochinolonele, reprezentate de pefloxacină în 81 cazuri (75%) şi ciprofloxacină în 27 cazuri (25%) au fost administrate ca tratament de primăintenţie în 96 cazuri (88,89%) şi de a doua intenţie în rest (12 cazuri- 11,11%). Antibioticele utilizate pentru asociere au fost alese în funcţie de etiologie (rifampicină, vancomicină, cloramfenicol în meningita stafilococică, aminopeniciline, vancomicină în cea enterococică, aminopeniciline, cefalosporine de generaţia a III-a în meningita cu bacili Gram-negativ, cloramfenicol în meningita cu anaerobi) sau de prezumţia etiologică (tab. I).

Durata medie a tratamentului cu fluorochinolone a fost de 13 zile, cu limite între 8 şi 30 zile. Parametrii clinici (febra, sindromul meningean, ameliorarea sau dispariţia fenomenelor neurologice) s-au normalizat în medie după o săptămână, iar cele paraclinice (clarificarea LCR, scăderea pleiocitozei, inversarea raportului PMN/limfocite, scăderea albuminorahiei, normalizarea glicorahiei) după aproximativ două săptămâni de tratament cu fluorochinolone (tab. II).

Tabel I. Schema de tratament cu fluorochinolone în meningitele bacteriene

Schema de terapie	Primointenţie	A doua intenţie	Total
Monoterapie	3 (3,13%)	4/12	7 (6,48%)
Biterapie	93 (96,87%)	5/12	98 (90,74%)
Triterapie	-	3/12	3 (2,78%)
Total	96 (88,89%)	12 (11,11%)	108 (100%)

Tabel II. Evoluţia meningitelor bacteriene sub tratament cu fluorochinolone

Parametri clinici şi paraclinici	Durata medie (zile)	Limite (zile)
Febră	8	1 - 37
Sindrom meningean	7	1 – 21
Clarificarea LCR	12,5	3 – 22
Scăderea pleiocitozei	9	3 – 21
Inversarea PMN/limfocite	10	3 – 27
Scăderea albuminorahiei	10	3 – 35
Normalizarea glicorahiei	10	3 – 31

Remanierea terapiei cu fluorochinolone a fost necesară, în medie, după 11 zile, datorită evoluției clinice nefavorabile (persistența febrei și a fenomenelor neurologice) în 2 cazuri (1,85%), apariției complicațiilor în alte 2 cazuri (1,85%) sau conform antibiogramei în 3 cazuri (2,78%).

Complicațiile au apărut în 28 de cazuri (25,93%), fiind reprezentate de abces cerebral (4 cazuri), hidrocefalie (22 cazuri), empiem subdural și surditate (câte 1 caz), cu o frecvență variabilă în funcție de etiologie (tab. III).

Tabel III. Complicațiile meningitelor bacteriene tratate cu fluorochinolone

Etiologie Complicații	Stafilococ N = 13	Enterococ N = 1	B.G.N. N = 9	Anaerobi N = 1	Neprecizat N = 84	Total N=108
Abces cerebral	1	1	1	-	1	4
Empiem subdural	-	-	1	-	-	1
Hidrocefalie	4	-	1	1	16	22
Surditate	-	-	1	-	-	1
Total	5	1	4	1	17	28

Evoluția a fost favorabilă în 84 cazuri (77,78%). În 12 cazuri, evoluția a fost staționară (4 cazuri- 3,70%) sau agravată prin apariția de complicații (8 cazuri - 7,41%), pacienții fiind transferați în Clinica de Neurochirurgie pentru rezolvarea chirurgicală a acestora.

S-au înregistrat 12 decese (11,11%), în meningita stafilococică (1 caz), cu bacili Gram-negativ (1 caz) sau cu agent etiologic neprecizat (10 cazuri). Decesul s-a instalat în medie după 6,5 zile de tratament cu fluorochinolone (tab. IV).

Tabel IV. Starea la externare a cazurilor studiate

Etiologie Stare la externare	Stafilococ	Enterococ	B.G.N	Anaerobi	Neprecizat	Total	
						Caz	%
Vindecat	11	-	7	-	66	84	77,78
Staționar	-	-	-	1	3	4	3,70
Agravat	1	1	1	-	5	8	7,41
Decedat	1	-	1	-	10	12	11,11
Total	13	1	9	1	84	108	100,00

Sub tratament cu fluorochinolone au apărut 22 de reacții adverse (20,37%), reprezentate de tulburări digestive (14 cazuri -12,96%),erupții alergice (3 cazuri - 2,78%), tahicardie (2 cazuri -1,85%), creșterea valorilor TGP (2 cazuri -1,85%) sau depresie (1 caz - 0,93%).

Discuţii

Utilizarea fluorochinolonelor în tratamentul meningitelor bacteriene este justificată de mai multe considerente:

- bactericidie crescută asupra bacteriilor Gram-negativ;
- pătrundere bună în LCR purulent, cu obţinerea unei concentraţii în LCR de 4 până la peste 50 de ori mai mare decât CMI-ul a 90% dintre tulpinile de germeni Gram-negativ; această penetrabilitate în LCR este favorizată de liposolubilitatea crescută, gradul scăzut de ionizare şi de legare de proteine;
- raportarea de eşecuri terapeutice şi recăderi în cursul tratamentului cu cefalosporine de generaţia a III-a, chiar în meningitele cauzate de bacili Gram-negativ sensibili *in vitro* la aceste antibiotice, în special cu *P.aeruginosa* şi *A. calcoaceticus* (4,5,6);
- frecvenţa crescută a reacţiilor adverse după administrarea intratecală a aminoglicozidelor.

În puţinele publicaţii din literatură privind utilizarea fluorochinolonelor în tratamentul meningitelor bacteriene umane se arată că singurele indicaţii sunt reprezentate de meningitele determinate de germenii Gram-negativ rezistenţi sau în cazul răspunsului inadecvat la terapia convenţională cu betalactamine. Dacă în SUA, ciprofloxacina a fost cel mai frecvent utilizată pentru această indicaţie, studiile europene recomandă în special pefloxacina, cu care s-a obţinut o rată de eradicare bacteriologică de 80% (5,6).

Cazuistica personală a inclus 9 cazuri de meningită cu bacili Gram-negativ. Deşi complicaţiile au apărut în aproape jumătate din cazuri, vindecarea s-a produs în majoritatea acestora (7 din 9 cazuri).

Germenii Gram-pozitiv implicaţi în etiologia meningitelor bacteriene sunt puţin sensibili la fluorochinolone. Ciprofloxacina şi pefloxacina, deşi sunt active *in vitro* asupra stafilococilor meticilinosensibili, realizează în LCR concentraţii care nu depăşesc CMI-ul acestor izolate, motiv pentru care activitatea lor antimicrobiană este insuficientă pentru a asigura succesul tratamentului (2). Experienţa clinică cu aceşti agenţi în tratamentul meningitelor stafilococice este redusă. În studiul prezent am utilizat pefloxacina în tratamentul a 13 meningite stafilococice. Evoluţia a fost favorabilă în 11 cazuri, incluzând şi un caz (un copil de 4 ani) cu abcese cerebrale multiple, la care s-a constatat regresia acestora, evidenţiată computertomografic, sub tratament exclusiv medical, cu pefloxacină în asociere cu rifampicină şi cloramfenicol. Totuşi, complicaţiile s-au înregistrat într-o proporţie destul de ridicată (5 din 13 cazuri), dar comparabilă cu cea raportată de alte studii referitoare la meningitele cu această etiologie (1).

Cazurile cu meningită enterococică (1 caz) şi cu germeni anaerobi (1 caz), deşi au supravieţuit au avut o evoluţie gravă, cu numeroase remanieri terapeutice, atât înainte, cât şi după fluorochinolone, transferate în cele din urmă la Spitalul de Neurochirurgie pentru rezolvarea chirurgicală a complicaţiilor.

Antibioticele administrate anterior internării în Clinica de Boli Infecţioase Iaşi au redus mult rata documentării microbiologice, agentul etiologic neputând fi

astfel precizat în majoritatea cazurilor studiate (77,78%). Evoluţia acestor cazuri a fost comparabilă cu a meningitelor al căror agent etiologic a fost identificat.

De menţionat, de asemenea, că evoluţia cazurilor studiate sub tratament cu fluorochinolone a fost comparabilă cu cea constatată de alte studii referitoare la meningitele bacteriene de diverse etiologii, tratate cu alte antibiotice (1). Acest fapt, precum şi riscul dezvoltării, în timp, a rezistenţei la fluorochinolone a germenilor implicaţi în apariţia acestor infecţii impun limitarea utilizării fluorochinolonelor doar în cazurile cu infecţii nosocomiale, iatrogene, cu germeni multirezistenţi la antibiotice, la pacienţii imunodeprimaţi, de preferat ca tratament de a doua intenţie, în asociere cu antibiotice sinergice.

Variind între 2 şi 82% în literatura de specialitate, incidenţa reacţiilor adverse în studiul nostru a fost de 20,37%, având o intensitate şi durată redusă, fără a impune remanierea tratamentului cu fluorochinolone (3).

Concluzii. În asociere cu antibiotice sinergice, fluorochinolonele sunt eficace, bine tolerate în tratamentul meningitelor bacteriene cu germeni sensibili.

Bibliografie

1. BEZTOUT J., GOURDON F., MONGHAL M., LAURICHESSE H., REY M. Donnees epidemiologiques sur les menignites purulentes de l'adulte et de l'enfant. Med Mal Infect. 1996; 26: 974-84
2. BRYSKIER A. Fluoroquinolones. In: Antibiotiques, agents antibactériens et antifongiques Ed. Ellipses, Paris 1999; 683-775
3. HOOPER D.C, WOLFSON J.S. Adverse effects of quinolones antimicrobial agents. in Quinolones antimicrobial agents. American Society for Microbiology Washington D.C. 1989; 249-71
4. PIOGET J.C., WOLFF M., SINGLAS E., LAISNE M.J., CLAIR B., REGNIER B., VACHON F. Diffusion of Ofloxacin into cerebrospinal fluid of patients with purulent meningitis or ventriculitis. Antimicrob Agents Chemother 1989; 933-6.
5. SEGEV S., ROSEN N., JOSEPH G., ALPERN ELRAN H., RUBINSTEIN E. Pefloxacin efficacy in Gram-negative bacillary meningitis. J Antimicrob Chemother 1990; 26 (Suppl. B): 187-92.
6. WOLFF M., BOUTRON L., SINGLAS E., CLAIR B., DECAZES M., REGNIER B. Penetration of Ciprofloxacin into cerebrospinal fluid of patients with bacterial meningitis. Antimicrob Agents Chemother 1987; 30:899-902

TRATAMENTUL CU ANTIBIOTICE LA VALVULARI CU PROCEDURI ORO-DENTARE

Rodica Ghiuru, V. Armaşu
Clinica a III-a Medicală UMF "Gr. T. Popa" Iaşi, Spitalul Militar, Iaşi

Abstract
Microbial infections of the endocardium, characterized by fever, heart murmurs, petechiae, anemia, embolic phenomena, and endocardial vegetations. *Streptococcal sp.* (especially *viridans*), *Staphylococcus aureus*, *Haemophilus influenzae* and *H. parainluenzae* usually cause subacute bacterial endocarditis (SBE). Also, SBE can be with mycotic etiology and especially the endocarditis on the valvular's prothesis determining by *Candida* and *Aspergillus*. Oral-dental procedures requiring antimicrobial endocarditis prophylaxis are: dental extraction, periodontal procedures including surgery, dental implant placement and reimplantation, subgingival placement of orthodontic bands, intraligamentary local anesthetic injections, and other procedures.
Our research paper has the main aim to study of the prophylactic treatment of bacterial endocarditis at the valvular's patients which needed stomatological procedures. For the patients with no contraindication administered Amoxicillin 2 g/day po 1 h before procedure and at 6 h after that. At the patients cannot take oral medications used Ampicillin 2 g i.m. with 30 min before and at 6 h after procedure. For the patients which cannot take oral medications and allergic to Penicillin administered Cyprofloxacin 200 mg g i.v. before procedure. At the patients allergic to Penicillin used Azythromycin 500 mg po 1 h before procedure with repetition at 2nd and 3rd days. Administering of antibiotics in the endocarditis prophylaxis was follow by a favorable evolution of patients with stomatological cure without complications being in concordance with the data from the literature of specialty.

Introducere. Endocarditele infecţioase se caracterizează prin febră, sufluri cardiace, peteşii, sindrom anemic, fenomene embolice şi vegetaţii la nivelul endocardului. Incidenţa endocarditei infecţioase nu s-a schimbat semnificativ în ultimele trei decade, deşi s-a realizat o performanţă evidentă în sinteza unor antibiotice cu spectru larg de acţiune. Bărbaţii sunt mai frecvent afectaţi decât femeile, vârsta medie de apariţie a bolii crescând de la 35 ani la peste 50 ani. Există o incidenţă crescută legată de abuzul de medicamente administrate intravenos,

precum şi de procedurile terapeutice invazive, la acestea adăugându-se endocarditele dezvoltate pe proteze valvulare. (Beers şi colab, 1999).

Endocardita bacteriană subacută este cauzată cel mai frecvent de diferite specii de streptococ (în special *Streptococcus viridans*) şi mai rar de *Stafilococcus aureus*, *Haemophilus influenzae* şi *H parainfluenzae*. De asemenea, poate fi de etiologie micotică în special în endocarditele pe proteze valvulare fiind determinate de *Candida sau Aspegillus*.

Scopul lucrării. În lucrarea prezentă ne-am propus studiul tratamentului profilactic al endocarditei bacteriene la pacienţii valvulari care au necesitat proceduri oro-dentare.

Material şi metodă. Am selecţionat un lot de 30 de pacienţi valvulari care au necesitat tratamente stomatologice. Dintre aceştia, 18 au fost de sex masculin şi 12 au fost de sex feminin. Pacienţii erau diagnosticaţi şi monitorizaţi cardiologic. Caracteristicile lotului studiat sunt prezentate în tabelul 1. În lotul studiat au fost 7 pacienţi cu insuficienţă mitrală reumatismală, 12 pacienţi cu stenoză mitrală reumatismală, un număr de 5 pacienţi prezentând boală mitrală reumatismală. Cazurile de insuficienţă aortică reumatismală, stenoză aortică reumatismală şi boală aortică reumatismală au fost mai puţin frecvente, predominând la bărbaţi faţă de femei. Vârsta medie a pacienţilor a fost de 42 de ani.

Tabelul 1. Caracteristicile lotului de bolnavi studiaţ

Specificare (Diagnostic)	Bărbaţi (n=18)		Femei (n=12)		Vârsta medie (ani)
	Nr.	%	Nr.	%	
Insuficienţă mitrală reumatismală	4	22,2	3	25,0	42
Stenoză mitrală reumatismală	7	38,9	5	41,7	
Boală mitrală reumatismală	3	16,6	2	16,7	
Insuficienţă aortică reumatismală	2	11,1	1	8,3	
Stenoză aortică reumatismală	1	5,6	1	8,3	
Boală aortică reumatismală	1	5,6	0	0	

Pacienţii studiaţi s-au prezentat la Serviciul de Stomatologie pentru tratamente stomatologice de specialitate, fiind monitorizaţi cardiologic. Înaintea efectuării procedurilor stomatologice bolnavii au fost evaluaţi clinico-biologic. Explorările paraclinice efectuate au avut drept scop înlăturarea unei suspiciuni de puseu acut reumatismal, acestea fiind redate în tabelul 2.

Tabelul 2. Explorări paraclinice la lotul de pacienţi valvulari

1. Examen de sînge: VSH, hemoleucograma, ASLO, proteina C reactivă, fibrinogen.
2. Exudatul faringian cu cercetarea existenţei unei flore microbiene patologice.
3. Examenul ORL pentru evidenţierea unor alte focare de infecţie.
4. Examenul stomatologic
5. Examenul sumar de urină.
6. Două uroculturi.
7. Radiografia toracică.
8 Ecocardiografia.
9. Cercetarea curbei febrile din 3 în 3 ore.

În urma investigaţiilor efectuate s-a stabilit că pacienţii sunt în afara unui nou puseu de reumatism articular acut (RAA), nu au semne clinice sau paraclinice de endocardită infecţioasă şi nu sunt decompensaţi cardiac. În aceste condiţii s-a decis aplicarea tratamentului de specialitate stomatologică. Procedurile oro-dentare care au fost aplicate pacienţilor sunt prezentate în tabelul 3. La toţi pacienţii studiaţi s-a făcut profilaxia endocarditei infecţioase cu antibiotice, ţinându-se cont de alergia la penicilină şi de imposibilitatea unora de a lua medicaţia orală (Ungureanu, 2000).

Modalitatea de aplicare a tratamentului a fost conformă cu standardele internaţionale (Beers şi colab., 1999), fiind redată în tabelul 4. Pentru pacienţii valvulari fără risc special, care au fost în număr de 24, am administrat Amoxicilină 2 g per os cu 1 h înainte de procedura stomatologică şi la 6 h după aceasta. În cazul bolnavilor ce nu pot lua medicamentele per os (4 cazuri) am administrat Ampicilină 2 g intra muscular cu o jumătate de oră înaintea procedurii şi ulterior la 6 h după aceasta (Ghiuru, 2001). În lotul studiat a fost un singur pacient valvular alergic la Penicilină. La acesta am administrat Azitromicină în doză de 500 mg per os cu 1 oră înaintea procedurii, cu repetarea prizei a doua şi a treia zi. De asemenea, a existat un singur pacient alergic la Penicilină şi cu contraindicaţii la administrarea de antibiotic per os. La acesta din urmă s-a administrat Ciprofloxacin în doză de 200 mg g i.v. cu 30 minute înainte de procedură.

Tabelul 3. Procedurile oro-dentare aplicate pacienţilor valvulari

Procedura	Nr. pacienţi	%
Extracţii dentare	12	40,0
Proceduri periodontale	7	25,0
Injecţii anestezice intraligamentare locale	5	15,0
Curăţirea profilactică a dinţilor	4	10,0
Plasarea subgingivală a unei plăci ortodontice	2	10,0

Tabelul 4. Profilaxia endocarditei infecţioase la pacienţii valvulari supuşi unor proceduri de tratament stomatologic

Caracteristicile pacienţilor	Nr.	%	Antibioticul ales	Doza şi modul de administrare
Pacienţi fără contraindicaţii	24	80,0	Amoxicilină	2 g per os cu 1 oră înainte de procedură şi la 6 ore după aceasta
Pacienţi care nu pot lua medicamente per os	4	13,4	Ampicilină	2 g i.m. cu 30 minute înaintea procedurii şi la 6 ore după procedură
Pacienţi care nu pot lua medicamente per os şi sunt alergici la Penicilină	1	3,3	Ciprofloxacin	200 mg i.v. cu 30 minute înainte de procedură
Pacienţi alergici la Penicilină	1	3,3	Azitromicină	500 mg per os cu 1 oră înaintea procedurii cu repetarea prizei a doua şi a treia zi.

După aplicarea tratamentelor stomatologice, concomitent cu tratamentul de profilaxie a endocarditei infecţioase, lotul de pacienţi studiat a fost monitorizat ambulatoriu, cu o consultaţie pe lună, timp de 3 luni. Nici unul dintre bolnavi nu a prezentat simptome sau semne de endocardită infecţioasă, având o evoluţie favorabilă.

Rezultate şi discuţii. Aplicarea standardizată a tratamentului profilactic în endocardita infecţioasă necesită o deosebită atenţie atât din partea cardiologului, cât şi din partea specialistului stomatolog. În studiul nostru profilaxia endocarditei infecţioase s-a aplicat conform standardelor internaţionale precizate pentru procedurile stomatologice cu risc (Dajani şi colab., 1997). Acestea sunt extracţiile dentare, procedurile periodontale incluzând chirurgia şi detartrajul, implantul dentar şi reimplantul, aplicarea subgingivală de benzi ortodontice, injecţii anestezice intraligamentare locale şi alte proceduri. Trebuie să amintim şi procedurile nestomatologice care necesită profilaxia endocarditei infecţioase: chirurgia interesând mucoasa respiratorie, bronhoscopia cu bronhoscop rigid, adenoidectomia, scleroterapia pentru varice esofagiene, dilatarea stricturilor esofagiene, chirurgia pe tractul biliar, chirurgia interesând mucoasa intestinală, chirurgia prostatică, cistoscopia şi dilataţia ureterală.

Administrarea antibioticelor mai sus menţionate în profilaxia endocarditei infecţioase a fost urmată în studiul nostru de evoluţia favorabilă a pacienţilor cu vindecare stomatologică fără complicaţii, aceasta fiind în consens cu datele din literatura de specialitate (Şurcan şi colab., 2002). Succesul terapeutic se realizează prin obţinerea unui nivel seric înalt al antibioticului ales, ţinându-se cont de agentul microbian şi de particularităţile organismului.

Asanarea focarelor de infecţie dentară se impune atât în profilaxia reumatismului articular acut, cât şi în prevenirea endocarditei infecţioase la valvulari. În realizarea acestor obiective este strict necesară o educaţie sanitară corespunzătoare cu creşterea adresabilităţii pacienţilor cu risc. Lotul studiat a avut o evoluţie favorabilă, tratamentul oro-dentar desfăşurându-se fără complicaţii locale, cu prevenţie corectă şi eficientă a endocarditei infecţioase.

Concluzii. Aplicarea corectă a antibioterapiei la valvularii supuşi unor proceduri stomatologice sângerânde previne riscul de endocardită infecţioasă. Pacienţii valvulari trebuie să-şi cunoască afecţiunea şi, de asemenea, să fie informaţi că orice intervenţie de mică sau de mare chirurgie trebuie făcută sub monitorizarea specialistului cardiolog.

În acelaşi sens se impune colaborarea cu specialistul stomatolog, pacientul fiind acela care să atragă atenţia asupra bolii sale, în special în aplicarea terapiilor ambulatorii. Monitorizarea valvularilor după procedura stomatologică sângerândă se impune atât ca metodă de prevenire, cât şi ca metodă de diagnostic precoce pentru endocardita infecţioasă.

Bibliografie

1. BEERS M.H., BERCOW R., et al., The Merck Manual, Centennial Edition, Merck & Co. Inc. 2000.
2. Dajani A.S., Taubert K.S., Wilson W., et al., Prevention of bacterial endocarditis, JAMA 277: 1794-1801, 1997.
3. GHIURU RODICA, ARMAŞU V, MORĂRAŞU CĂTĂLINA, Profilaxia endocarditei infecţioase la valvulari cu proceduri stomatologice sângerânde, Medicina stomatologică, Vol. II, 2001, 402-405.
1. ŞURCAN LUCIA, CHETRARI TAMARA, Utilizarea raţională a antibioticelor şi antibiotico-rezistenţa, A doua Conferinţă Naţională de Chimioterapie Antibacteriană, Antifungică şi Antivirală, UMF Iaşi, 2002, 107-108.
4. UNGUREANU G, COVIC MARIA, Terapeutică Medicală, Editura Polirom, Iaşi, 2000

EVALUAREA COMPARATIVĂ A ANTIBIOTICELOR SISTEMICE ÎN PARODONTITE

Sanda Mihaela Popescu*, Gabriela Pătroi*,
A. M. Popescu**, Florica Popescu*, F.D. Popescu***
*Facultatea de Stomatologie, UMF Craiova
**medic specialist stomatolog cu practică privată
***Catedra de Alergologie, UMF "Carol Davila", Bucureşti

Abstract

Background: Systemic antibiotics are valuable adjuncts to periodontal mechanical therapy in specialized types of periodontal disease, such as localized and generalized aggressive periodontitis and adjuncts of possible value in chronic periodontitis.

Aim: The aim of the present investigation was to study the effect of antibiotic therapy in the treatment of patients with localized and generalized aggressive periodontitis.

Methods: Following a baseline examination, 19 patients (age 20-55) with localized and generalized aggressive periodontitis were subjected to nonsurgical therapy including the use of systemic antibiotics: ampicillin 250 mg qid 5 days and metronidazole 200 mg bid 10 days (AM group) versus metronidazole 200 mg bid 10 days for beta-lactam allergic patients (M group). The patients were re-examined after 3, 6 and 12 months. The examination included clinical assessments of periodontal pocket depths, plaque index, clinical attachment level and bleeding on probing.

Results: Finally, groups sizes were: 14 patients for AM and 5 patients for M. Probing depth has improved in both groups (from 18,42% after 3 months to 26,31% after 12 months in AM group and from 12,12% after 3 months to 15,15% after 12 months in M group), and plaque index also (from 78% at baseline to 55% after 12 months in AM group and from 78% at baseline to 65% after 12 months in M group). Clinical attachment level was significant improved in AM group (from 4,34% after 3 months to 13,04% after 12 months) comparative with M group were it remained almost constant (9,37% after 3 months to 9,37% after 12 months). After 12 months bleeding on probing decreased (from 38% to 18% in AM group and from 38% to 19% in M group) and the general periodontal situation was better for all patients.

Conclusions: The data suggest that systemic antibiotic has an important role in aggresive periodontitis treatment, combination ampicillin and metronidazole being more efficient than metronidazole alone.

Boala parodontală afectează o categorie largă de indivizi. Formele severe ale acesteia se întâlnesc însă la 10% din populaţie, parodontita avansată găsindu-se într-o proporţie redusă la pacienţii parodontopaţi, numărul de dinţi afectaţi fiind mic. Dacă inflamaţia gingivală poate fi rezolvată cu restitutio ad integrum prin controlul plăcii bacteriene, în cazul bolii parodontale retracţia gingivală nu poate fi împiedicată.

Planul de tratament al bolii parodontale se centrează pe două obiective fundamentale: instruirea pacienţilor în vederea controlului plăcii dentare bacteriene supragingivale prin tehnici eficiente de îndepărtare a acesteia şi îndepărtarea plăcii subgingivale prin tehnici manuale şi mecanice. Primul obiectiv depinde în primul rând de individ, în timp ce al doilea este controlat de medic. Pentru marea majoritate a pacienţilor tratamentul de bază este reprezentat de detartrajul supra şi subgingival, însoţit de chiuretajul subgingival şi planarea rădăcinilor, efectuate manual sau ultrasonic. Deşi terapia mecanică poate îndepărta bacterii de tipul *Campylobacter rectus* (Rams şi col., 1993), aceasta este ineficientă asupra *Porphyromonas gingivalis, Bacteroides forsythus* (Edwardsson şi col., 1999, Petersilka şi col., 2002), *Actinobacillus actinomycetemcomitans* sau *Peptostreptococcus micros* (Slots şi Ting, 2002).

Astfel, în anumite situaţii, ţinând cont de etiologia bacteriană a bolii parodontale, este necesară aplicarea unei terapii antimicrobiene. În ultimele două decenii, parodontologii au început să acorde o importanţă crescândă terapiei antibiotice în parodontitele marginale, în special datorită dovezilor acumulate despre specificitatea bacteriană în parodontite (Slots şi Chen, 1999). Majoritatea autorilor insistă că terapia antibiotică trebuie aplicată în special în cazul parodontitei agresive şi parodontitei cronice avansate care nu au răspuns la tratament mecanic (Mombelli şi col., 1997).

Antibioticele pot fi administrate local şi sistemic, dar administrarea sistemică are avantaje în cazul în care sunt implicaţi mai mulţi dinţi. Mai multe studii au arătat că principalele antibiotice folosite sunt: tetraciclinele, penicilinele (în special amoxicilina) şi metronidazolul. Antibioticele sistemice pătrund în ţesuturile parodontale şi în şanţul parodontal prin ser şi acţionează asupra bacteriilor care nu pot fi îndepărtate prin tratament mecanic sau sub acţiunea antibacterienelor topice (atât antibiotice, cât şi antiseptice). Terapia antibiotică sistemică acţionează, de asemenea, şi asupra depozitelor de germeni periodontopatogeni din alte zone ale cavităţii bucale, cum ar fi faţa dorsală a limbii, producând astfel o întârziere a recolonizării şanţului gingival cu periodontopatogeni (Muller şi col., 1998).

Selectarea acestor antibiotice se bazează pe susceptibilitatea microorganismelor asociate cu boala parodontală. Microflora pungilor parodontale este foarte diversă, dar un număr restrâns de bacterii sunt considerate adevărate periodontopatogene. *Actinobacillus actinomycetemcomitans, Bacteroides forsythus* şi *Poprphyromonas gingivalis* sunt unele dintre acestea. De aceea, diagnosticul microbiologic se impune în practica clinică, dar datorită dificultăţilor de recoltare,

de obicei, alegerea antibioticului este empirică.

O modalitate de a creşte sensibilitatea agenţilor patogeni la antibiotice este folosirea combinată a acestora. De la iniţiativa încurajatoare a lui Van Winkelhoff şi col. în 1989 combinaţia metronidazol-amoxicilină a atras un interes clinic deosebit (Berglundh şi col., 1998; Flemmig şi col., 1998 a, b). Frecvent, în practica stomatologică se utilizează terapiile unice cu peniciline (amoxicilină sau ampicilină), tetracicline (tetraciclină, doxiciclină), metronidazol. Totuşi, datorită prezenţei unei flore mixte periodontopatogene (aerobi şi anaerobi), în ultima vreme se recomandă în special combinaţiile de antibiotice. Dintre acestea, cea mai valoroasă combinaţie este amoxicilină-metronidazol în cazul infecţiilor cu *Actinobacillus actinomycetemcomitans* sau cu anaerobi (Slots şi Ting, 2002).

Rooney şi col. (2002) compară eficienţa terapiei combinate amoxicilină-metronidazol cu terapia unică cu metronidazol, amoxicilină sau placebo, într-un studiu cu un design dublu orb, randomizat, placebo controlat. Folosind pentru aprecierea eficienţei teste microbiologice şi parametrii clinici (indicele de adâncime a pungilor parodontale, indicele de placă, indicele de sângerare gingivală, indicele de retracţie gingivală şi mobilitatea dentară), autorii demonstrează eficienţa tratamentului combinat faţă de placebo şi faţă de variantele unice de tratament.

Scopul studiului prezent este de a investiga efectele unei terapii antibiotice în tratamentul pacienţilor cu parodontită agresivă localizată sau generalizată. Deoarece în cabinetul stomatologic se prezintă şi pacienţi cu alergie la betalactamine, am considerat utilă compararea rezultatelor obţinute în urma terapiei combinate amoxicilină-metronidazol la pacienţii fără contraindicaţii cu rezultatele terapiei unice cu metronidazol la pacienţii cu alergie la betalactamine.

Material şi metodă: toţi pacienţii incluşi în studiu au acceptat să participe semnând un consimţământ scris, după ce au citit protocolul studiului. Lotul de pacienţi a cuprins 19 subiecţi cu vârste cuprinse între 20 şi 55 de ani, diagnosticaţi cu parodontită agresivă, forma generalizată sau localizată. La examinarea parodontală iniţială prezentau, pe fiecare cadran, cel puţin un dinte cu o pungă parodontală cu adâncimea de peste 6 mm, care sângera la palparea cu sonda şi prezenta secreţie purulentă. Toţi pacienţii nu aveau boli generale grave care să împiedice derularea studiului, nu au făcut tratament sistemic cu antibiotice în ultimele 4 luni. S-au exclus gravidele şi femeile care alăptau.

S-au întocmit foi de observaţie complete pentru toţi pacienţii care au cuprins:

1. adâncimea pungilor parodontale în mm pe cele 4 suprafeţe ale fiecărui dinte (vestibular, mezial, oral, distal) măsurată cu o sondă parodontală gradată.

2. retracţia gingivală pe cele 4 suprafeţe ale fiecărui dinte (vestibular, mezial, oral, distal), folosind ca punct de referinţă joncţiunea smalţ-cement, reprezentată valoric în mm.

3. evaluarea igienei orale a pacientului prin stabilirea indicelui de placă. Indicele de placă se calculează după formula: IP = (nr. suprafeţe cu placă)/nr. total

de suprafeţe dentare×100.

4. sângerarea la palparea cu sonda în cele 4 puncte (vestibular, mezial, oral, distal), indicele de sângerare gingivală fiind exprimat prin ISG = (nr. suprafeţe sângerânde) / nr. total de suprafeţe dentare×100.

Planul de tratament a cuprins :

1. instruirea pacientului în vederea dobândirii unei tehnici corecte de periaj individual prin care să poată îndepărta placa bacteriană supragingivală, la care s-a adăugat şi învăţarea unor metode speciale de curăţire a plăcii interdentare.

2. detartrajul supra şi subgingival, însoţit de periaj profesional.

3. detartraj subgingival şi chiuretaj în câmp închis, planarea rădăcinilor cu instrumentar Gracey, prin tehnică manuală.

4. după încheierea tratamentului mecanic, s-a efectuat o evaluare de bază care a urmărit parametrii: adâncimea pungilor parodontale, indicele de placă, retracţia gingivală, sângerarea gingivală la palparea cu sonda. Acestea au reprezentat valorile de bază ale parametrilor de la care s-a început aprecierea eficienţei antibioterapiei sistemice.

Pacienţilor li s-au administrat antibioticele, după cum urmează: pacienţii fără contraindicaţii la betalactamine, respectiv fără alergie, au primit ampicilină 250 mg qid 5 zile şi metronidazol 200 mg bid 10 zile formând grupul AM, 14 pacienţi (8 bărbaţi, 6 femei). Pacienţii alergici la betalactamine au format grupul M, 5 pacienţi (3 bărbaţi, 2 femei) şi au primit metronidazol 200 mg bid 10 zile. Toţi pacienţii au fost re-examinaţi la 3 luni, 9 luni şi 12 luni. Re-examinarea a cuprins evaluarea clinică a următorilor parametri: adâncimea pungilor parodontale, indicele de placă, retracţia gingivală, sângerarea gingivală la palparea cu sonda.

S-au calculat indicii:

1. indicele de adâncime a pungilor parodontale: IAP = (p1-p2)/p1×100;

2. indicele de retracţie gingivală: IRG = (r1-r2)/r1×100;

3. indicele de placă: IP= (nr. suprafeţe cu placă)/nr. total de suprafeţe dentare×100;

4. indicele de sângerare gingivală: ISG = (nr. suprafeţe sângerânde)/nr. total de suprafeţe dentare×100.

Rezultate:

Modul în care a variat indicele de adâncime a pungilor parodontale la pacienţii din cele două grupe este prezentat în figura 1. În cele 12 luni se observă o reducere a adâncimii pungilor gingivale, reflectată prin creşterea valorii indicelui. Acesta s-a îmbunătăţit la ambele grupuri (de la 18,42% după 3 luni la 26,31% după 12 luni în grupul AM şi de la 12,12% după 3 luni la 15,15% după 12 luni în grupul M). Creşterea valorii indicelui este mai importantă în primele 6 luni, după care evoluţia favorabilă se înscrie într-o linie uşor crescătoare. Diferenţa dintre cele două grupe de pacienţi este evidentă, terapia combinată ampicilină-metronidazol fiind mult mai eficientă ca terapia unică în reducerea adâncimii pungilor

parodontale. Între 6-12 luni, acest parametru se îmbunătățește în continuare la grupul tratat combinat, în timp ce, la pacienții tratați doar cu metronidazol, acesta stagnează.

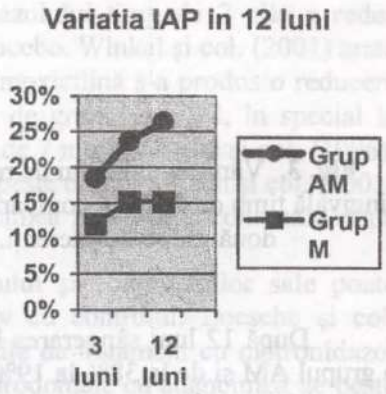


Fig. 1. Variația indicelui de adâncime a pungilor parodontale timp de 12 luni, comparativ la cele două grupe de pacienți.

Indicele de placă scade semnificativ în primele 6 luni după care urmează o stagnare, ba chiar o ușoară revenire spre valori mai ridicate ale acestui indice (de la 78% la examinarea inițială la 55% după 12 luni în grupul AM și de la 78% la examenul inițial la 65% după 12 luni în grupul M). Rezultatele sunt prezentate în figura 2. Se subliniază importanța motivării pacientului în vederea schimbării obiceiurilor de igienă orală, fapt de maximă importanță în evoluția și menținerea bolii parodontale.

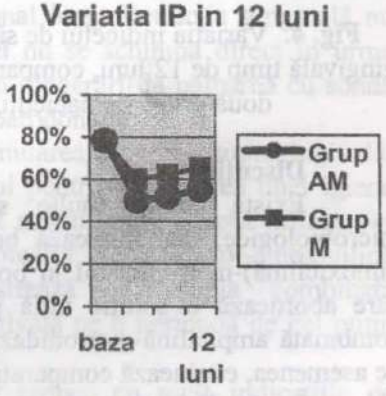


Fig. 2. Variația indicelui de placă timp de 12 luni, comparativ la cele două grupe de pacienți.

Indicele de retracție gingivală a fost îmbunătățit semnificativ în grupul AM (de la 4,34% după 3 luni la 13,04% după 12 luni) comparativ cu grupul M unde a rămas aproape constant (9,37% după 3 luni și 9,37% după 12 luni). Figura 3 arată cum retracția gingivală s-a îmbunătățit semnificativ pe parcursul celor 12 luni.

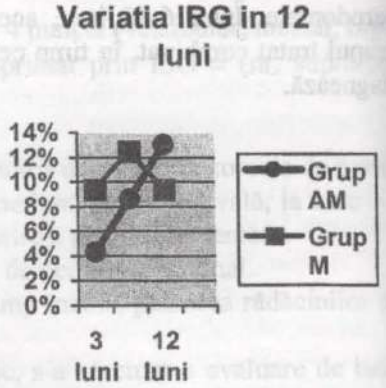


Fig. 3. Variația indicelui de retracție gingivală timp de 12 luni, comparativ la cele două grupe de pacienți.

După 12 luni sângerarea la palparea cu sonda a scăzut (de la 38% la 18% în grupul AM și de la 38% la 19% în grupul M), iar situația parodontală generală a fost mai bună pentru toți pacienții. Figura 4 prezintă aspectul grafic al reducerii sângerării gingivale.

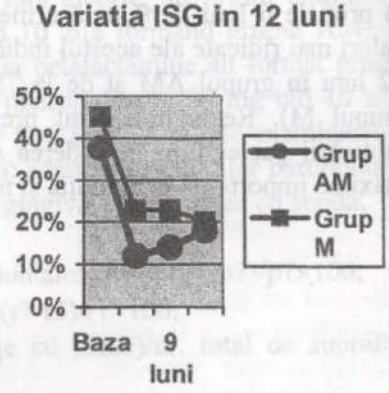


Fig. 4. Variația indicelui de sângerare gingivală timp de 12 luni, comparativ la cele două grupe de pacienți.

Discuții:

Există foarte multe studii care, bazându-se pe date clinice și microbiologice, demonstrează beneficiul adus de terapia combinată ampicilină (amoxicilină)-metronidazol în boala parodontală avansată. Acesta este un studiu care abordează o soluție utilă pentru pacienții care nu-și pot permite terapia combinată ampicilină-metronidazol datorită prezenței alergiei la betalactamine și, de asemenea, evaluează comparativ eficiența acesteia față de terapia combinată.

În studiul prezent, ambele grupe de pacienți tratate au prezentat îmbunătățirea tuturor parametrilor clinici: IAP, IP, IRG, ISG. Schimbarea majoră a fost observată în special în primele 6 luni, în următoarele 6 luni înregistrându-se o stagnare a variației parametrilor clinici. S-a ales ca durată a studiului o perioadă de 12 luni pentru a putea observa mai bine modificările produse la nivelul parodonțiului marginal de către tratamentul cu antibiotice, exprimate prin indicii parodontali de adâncime a pungilor parodontale și retracție gingivală.

Antibioticele sistemice nu au un impact semnificativ asupra pungilor parodontale comparativ cu placebo, dar terapia cu metronidazol sau metronidazol-amoxicilină reprezintă o excepţie importantă. Noyan şi col. (1997), Elter şi col. (1997) demonstrează că administrarea metronidazolului timp de 7 zile a redus adâncimea pungilor parodontale comparativ cu placebo. Winkel şi col. (2001) arată că după un tratament de 7 zile cu metronidazol-amoxicilină s-a produs o reducere mai mare a adâncimii pungilor parodontale faţă de grupul control, în special la pungile cu adâncimea iniţială egală sau mai mare de 7 mm. Loesche şi col. (1996), au găsit reduceri mai mari la sondaj la pungile de peste 6 mm. Siguch şi col. (2001) au demonstrat o reducere semnificativă în adâncimea pungilor parodontale după metronidazol sistemic şi clindamicină.

Administrarea sistemică a metronidazolului şi combinaţiilor sale poate îmbunătăţi nivelul inserţiei epiteliale comparativ cu controlul. Loesche şi col. (1996), Elter şi col. (1997) au arătat că după 7 zile de tratament cu metronidazol nivelul inserţiei epiteliale s-a ridicat în pungile parodontale cu adâncimea de peste 4-6 mm. Flemmig şi col. (1998), Lopez şi col. (2000) şi Winkel şi col. (2001) au arătat că terapia combinată metronidazol-amoxicilină timp de 7-14 zile a crescut semnificativ proporţia pungilor parodontale unde inserţia epitelială s-a ridicat. Berglundh şi col. (1998) au demonstrat că cel mai mare câştig de inserţie epitelială are loc la nivelul pungilor parodontale mai mari de 6 mm.

Efectele fiecărui tip de tratament asupra retracţiei gingivale au fost mai puţin spectaculoase decât cele asupra adâncimii pungilor parodontale, rezultatele favorizând grupul aflat sub terapie combinată. Acestea reflectă efectele tratamentului la nivelul ţesutului parodontal de reducere a inflamaţiei, reorganizare a colagenului şi restabilirea unui epiteliu joncţional lung. Retracţia gingivală nu este dependentă de gradul de inflamaţie şi astfel nu se schimbă direct în urma modificării adâncimii pungii parodontale. Absenţa sângerării la palparea cu sonda reprezintă un element care arată stabilizarea bolii parodontale.

Antibioticele sistemice nu afectează acumularea de placă supragingivală. Reducerea plăcii depinde de eforturile pacientului pentru menţinerea unei igiene orale corecte. Antibioticele sistemice cu un efect semnificativ asupra inflamaţiei gingivale sunt metronidazolul, doxiciclina, combinaţia metronidazol-amoxicilină (ampicilină). Lopez şi col. (2000) demonstrează că terapia combinată metronidazol-amoxicilină a redus sângerarea gingivală pe o perioadă de cel puţin 12 luni comparativ cu placebo.

Administrarea sistemică a antibioticelor reduce cu mult indicaţiile de intervenţie chirurgicală la nivelul parodonţiului marginal. Astfel, la un grup de pacienţi cu parodontită cronică avansată, administrarea timp de 7 zile a metronidazolului a redus numărul dinţilor la care se impunea o terapie chirurgicală, comparativ cu grupul control (Loesche şi col., 1996).

Terapia combinată metronidazol-amoxicilină poate reduce *A. actinomycetemcomitans* sub nivelul de detectare în placa subgingivală pentru cel puţin 2 ani (Pavicic şi col., 1994) şi la nivelul mucoasei orale, faţa dorsală a limbii

şi amigdale pentru cel puţin 1 an (Flemmig şi col., 1998). Terapia metronidazol-amoxicilină pentru o perioadă de 7-8 zile poate reduce concentraţia subgingivală a *P. gingivalis*, deşi nu sub nivelul de detectare (Flemmig şi col., 1998, Lopez şi col., 1998, Winkel şi col., 2001). Berglundh şi col. (1998) au arătat că detartrajul subgingival şi planarea rădăcinilor însoţite de terapia sistemică metronidazol-amoxicilină pentru 14 zile au determinat suprimarea *P. gingivalis* timp de 12 luni mai eficient decât detartrajul singur sau decât metronidazolul fără detartraj. Terapia combinată metronidazol-amoxicilină pare să fie cea mai eficientă în supresia *P. gingivalis* din parodontita agresivă (van Winkelhoff şi col., 1989). De asemenea, administrarea sistemică a combinaţiei metronidazol-amoxicilină reduce nivelul *P. gingivalis* de pe mucoasa orală, faţa dorsală a limbii şi amigdale (Flemmig şi col., 1998). Şi alte bacterii periodontopatogene sunt afectate de această terapie. Metronidazolul poate reduce nivelul de anaerobi, *Fusobacterium*, *Selenomonas*, *Eikenella corrodens*, *Campylobacter rectus* şi *Peptostreptococcus micros*. Combinaţia metronidazol-amoxicilină (Winkel şi col., 2001) are potenţialul de a reduce depozitele subgingivale de *F. nucleatum*.

Concluzii: Datele obţinute pe parcursul acestui studiu sugerează că antibioterapia sistemică are un rol important în tratamentul formelor de parodontită agresivă, combinaţia ampicilină-metronidazol fiind mai eficientă decât metronidazolul unic. Dacă testele microbiologice nu sunt disponibile, terapia combinată metronidazol-ampicilină poate reprezenta un tratament antibiotic de primă alegere în parodontologie cu eficienţă destul de mare în formele de parodontită agresivă cu pungi parodontale de peste 6 mm.

Bibliografie:

1. BERGLUNDH T, KROK L, LILJENBERG B, WESTFELT E, SERINO G, LINDHE J., The use of metronidazole and amoxicillin in the treatment of advanced periodontal disease. A prospective, controlled clinical trial. J Clin Periodontol, 1998: 25: 354-362.
2. EDWARDSSON S, BING M, AXTELIUS B, LINDBERG B, SÖDERFELDT B, ATTSTRÖM R. The microbiota of periodontal pockets with different depths in therapy-resistant periodontitis. J Clin Periodontol, 1999: 26: 143-152.
3. ELTER JR, LAWRENCE HP, OFFENBACHER S, BECK JD. Meta-analysis of the effect of systemic metronidazole as an adjunct to scaling and root planing for adult periodontitis. J Periodontal Res, 1997: 32: 487-496.
4. FLEMMIG TF, MILIÁN E, KARCH H, KLAIBER B. Differential clinical treatment outcome after systemic metronidazole and amoxicillin in patients harboring *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and/or *Porphyromonas gingivalis*. J Clin Periodontol, 1998: 25: 380-387.
5. FLEMMIG TF, MILIÁN E, KOPP C, KARCH H, KLAIBER B. Differential effects of systemic metronidazole and amoxicillin on *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and *Porphyromonas gingivalis* in intraoral habitats. J Clin Periodontol, 1998: 25: 1-10.
6. LOESCHE WJ, GIORDANO J, SOEBREN S, HUTCHINSON R, RAU CP, WALSH L, SCHORK MA. Nonsurgical treatment of patients with periodontal disease. Oral Surg Oral Med

Oral Pathol Oral Radiol Endod, 1996: 81: 533-543.
7. LÓPEZ NJ, GAMONAL JA. Effects of metronidazole plus amoxicillin in progressive untreated adult periodontitis: results of a single 1-week course after 2 and 4 months. J Periodontol, 1998: 69: 1291-1298.
8. LÓPEZ NJ, GAMONAL JA, MARTINEZ B. Repeated metronidazole and amoxicillin treatment of periodontitis. A follow-up study. J Periodontol, 2000: 71: 79-89.
9. MOMBELLI A, SCHMID B, RUTAR A, LANG NP. Persistence patterns of *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia/nigrescens*, and *Actinobacillus actinomycetemcomitans* after mechanical therapy of periodontal disease. J Periodontoln 2000: 71: 14-21.
10. MÜLLER HP, HEINECKE A, BORNEFF M, KIENCKE C, KNOPF A, POHL S. Eradication of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* from the oral cavity in adult periodontitis. J Periodontal Res, 1998: 33: 49-58.
11. NOYAN Ü, YILMAZ S, KURU B, KADIR T, ACAR O, BÜGET E. A clinical and microbiological evaluation of systemic and local metronidazole delivery in adult periodontitis patients. J Clin Periodontol, 1997: 24: 158-165.
12. PAVICIC MJAMP, VAN WINKELHOFF AJ, DOUQUÉ NH, STEURES RWR, DE GRAAFF J. Microbiological and clinical effects of metronidazole and amoxicillin in *Actinobacillus actinomycetemcomitans*-associated periodontitis. A 2-year evaluation. J Clin Periodontol, 1994: 21: 107-112.
13. PETERSILKA GJ, EHMKE B, FLEMMIG TF. Antimicrobial effects of mechanical debridement. *Periodontol 2000* 2002: 28: 56-71.
14. RAMS TE, FEIK D, LISTGARTEN MA, SLOTS J. *Peptostreptococcus micros* in human periodontitis. Oral Microbiol Immunol, 1992: 7: 1-6.
15. RAMS TE, FEIK D, SLOTS J. *Campylobacter rectus* in human periodontitis. Oral Microbiol Immunol, 1993: 8: 230-235.
16. ROONEY J, WADE WG, SPRAGUE SV, NEWCOMBE RG, ADDY M, Adjunctive effects to non-surgical periodontal therapy of systemic metronidazole and amoxycillin alone and combined. A placebo controlled study, J Clin Periodontol, 2002: 29: 342-350.
17. SIGUSCH B, BEIER M, KLINGER G, PFISTER W, GLOCKMANN E. A 2-step non-surgical procedure and systemic antibiotics in the treatment of rapidly progressive periodontitis. J Periodontol, 2001: 72: 275-283.
18. SLOTS J, CHEN C. The oral microflora and human periodontal disease. In: Tannock GW, ed. Medical importance of the normal microflora. London: Kluwer Academic Publishers, 1999: 101-127.
19. SLOTS J, TING M. Systemic antbiotics in the treatment of periodontal disease. *Periodontol 2000* 2002: 28: 106-176.
20. VAN WINKELHOFF AJ, RODENBURG JP, GOENE RJ, ABBAS F, WINKEL EG, DE GRAAFF J. Metronidazole plus amoxycillin in the treatment of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* associated periodontitis. *J Clin Periodontol* 1989: 16: 128-131.
21. WINKEL EG, VAN WINKELHOFF AJ, TIMMERMAN MF, VAN DER VELDEN U, VAN DER WEIJDEN GA. Amoxicillin plus metronidazole in the treatment of adult periodontitis patients. A double-blind placebo-controlled study. *J Clin Periodontol* 2001: 28: 296-305.

TERAPIA ANTIMICROBIANĂ ÎN PNEUMONIA ASOCIATĂ A SARCINII

Rodica Ghiuru, Denise Urzică
Clinica a III-a Medicală UMF "Gr.T. Popa" Iaşi, Spitalul Clinic Obstetrică-Ginecologie "Cuza Vodă", Iaşi

Abstract
Microbial infections of the endocardium, characterized by fever, heart murmurs, petechiae, anemia, embolic phenomena, and endocardial vegetations. *Streptococcal sp.* (especially *viridans*), *Staphylococcus aureus*, *Haemophilus influenzae* and *H. parainluenzae* usually cause subacute bacterial endocarditis (SBE). Also, SBE can be with mycotic etiology and especially the endocarditis on the valvular's prothesis determining by *Candida* and *Aspergillus*. Oral-dental procedures requiring antimicrobial endocarditis prophylaxis are: dental extraction, periodontal procedures including surgery, dental implant placement and reimplantation, subgingival placement of orthodontic bands, intraligamentary local anesthetic injections, and other procedures.
Our research paper has the main aim to study of the prophylactic treatment of bacterial endocarditis at the valvular's patients which needed stomatological procedures. For the patients with no contraindication administered Amoxicillin 2 g/day po 1 h before procedure and at 6 h after that. At the patients cannot take oral medications used Ampicillin 2 g i.m. with 30 min before and at 6 h after procedure. For the patients which cannot take oral medications and allergic to Penicillin administered Cyprofloxacin 200 mg g i.v. before procedure. At the patients allergic to Penicillin used Azythromycin 500 mg po 1 h before procedure with repetition at 2nd and 3rd days. Administering of antibiotics in the endocarditis prophylaxis was follow by a favorable evolution of patients with stomatological cure without complications being in concordance with the data from the literature of specialty.

Introducere. Pneumoniile sunt procese inflamatorii acute ale parenchimului pulmonar (alveolită exudativă şi infiltrat interstiţial) manifestate clinic prin procese de condensare pulmonară (Aubier şi colab, 1996). În funcţie de condiţiile în care este contactată infecţia respiratorie, pneumoniile se împart în pneumonii comunitare (contactate în afara spitalului) şi pneumonii nosocomiale (contactate în mediu de spital) (Boisteanu, 2001; Botnaru, 2001).

Pneumoniile comunitare sunt produse atât de bacterii cât şi de virusuri, pe primul loc în ordinea frecvenţei fiind *Streptococus pneumoniae* (tab. 1) (Ghiuru şi

colab, 2002; Annesi şi colab, 2000). Pneumonia asociată sarcinii este o stare cu potenţial morbid atât pentru mamă, cât şi pentru făt, astfel încât se impune un tratament etiologic prompt, intensiv şi fără potenţial teratogen.

Tabelul 1. Etiologia pneumoniilor comunitare (după Stein, 1994)

Germen	Frecvenţa (%)
Streptococcus Pneumoniae	50 - 80
Bacili gram-negativi	3 - 11
Klebsiella pneumoniae	2 - 6
Staphylococcus aureus	1 - 10
Anaerobi	2 - 12
Mycoplasma pneumoniae	3 - 44
Haemophylus Influenzae	3 - 15
Virusuri	16
Legionella pneumophila	5 - 20
Pneumocystis carinii	Rar, cu excepţia bolnavilor HIV+

Scopul lucrării. Scopul lucrării prezente este evaluarea eficacităţii tratamentului cu ampicilină la gravidele cu pneumonie asociată sarcinii.

Material şi metodă. Studiul a fost efectuat pe un număr de 14 gravide, internate cu diagnosticul de pneumonie comunitară în perioada 01.01.1995 - 31.12.1998. Caracteristicile lotului de gravide studiat, în funcţie de vârstă, paritatea medie şi trimestrul de sarcină sunt redate în tabelul 2.

Tabelul 2. Caracteristicile lotului de gravide studiat

Vârsta medie (ani)	Paritatea medie (nr.)	Nr. gravide/trim. de sarcină		
		Trim I	Trim. II	Trim. III
25	2	3	7	4

Diagnosticul pozitiv de pneumonie comunitară s-a pus pe baza tabloului clinic şi a examenului paraclinic. Debutul pneumoniei a fost acut, manifestat prin febră înaltă, frison, durere toracică intensă, tuse iniţial neproductivă, ulterior cu expectoraţie muco-purulentă. La examenul fizic s-a constatat sindrom de condensare pulmonară obiectivat prin reducerea amplitudinii respiratorii în partea bolnavă, matitate sau submatitate, vibraţii vocale transmise accentuat, raluri crepitante, suflu tubar sau respiraţie suflantă. Ca investigaţii paraclinice s-au efectuat radiografia toracică la gravidele din trimestrul II şi III, examenul de spută, probele biologice de inflamaţie şi hemoculturile în plin puseu febril (Chestnutt şi colab, 1999).

Radiografia toracică a arătat opacitate omogenă, de formă triunghiulară, delimitată de scizură (exemplificare figura 1). Examenul bacteriologic al sputei a

constat în frotiu colorat Gram şi cultură cu antibiogramă, iar pentru diagnosticul diferenţial cu tuberculoza pulmonară s-a solicitat şi coloraţie Ziehl-Nielsen. Examenul de sânge a arătat VSH crescut, leucocitoză cu neutrofilie şi granulaţii toxice şi uneori hemoculturi pozitive cu pneumococ. Au fost efectuate un număr de minimum 5 hemoculturi pentru fiecare gravidă. Datorită dificultăţilor de interpretare a bacteriologiei sputei (produsele fiind contaminate cu floră oro-faringiană) etiologia pneumoniilor comunitare rămâne adeseori necunoscută şi tratamentul se instituie empiric.

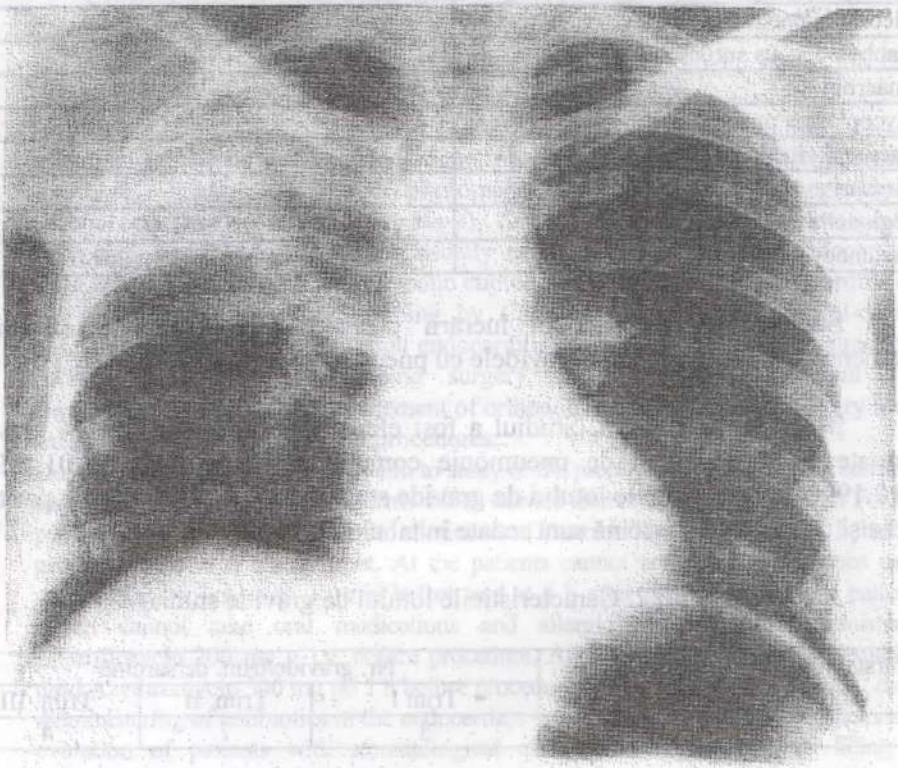


Fig. 1. Pneumonie bacteriană acută la o gravidă în trim. II de sarcină.
Opacitate triunghiulară, cu baza situată extern şi vârful în hilul pulmonului drept.

Abordarea terapeutică a ţinut cont de criteriile ATS (American Thoracic Society), în funcţie de severitatea bolii, vârstă, prezenţa afecţiunilor asociate şi necesitatea spitalizării (tab. 3). Luându-se în consideraţie că pneumonia evolua la gravide, spitalizarea s-a impus în mod obligatoriu (Ghiuru şi colab. 1999).

Tabelul 3. Indicații de spitalizare în pneumonii

Criteriile de bază*
1. Vârsta înaintată
2. Şoc, deshidratare
3. Vărsături necesitând tratament injectabil
4. Pneumonie multilobară
5. Leucocite scăzute
6. Pa O_2 < 55 mm Hg (hipoxemie)
7. Acidoză respiratorie
8. Afecțiuni concomitente severe
9. Etiologie neprecizată
10. Suspiciune de complicații extrapulmonare (empiem, pericardită, septicemie)

* Pneumonia asociată sarcinii

În studiul nostru cele 14 gravide au fost tratate cu Ampicilină sau asociere de Ampicilină+Cefuroxim în funcție de severitatea pneumoniei şi de trimestrul de sarcină. Abordarea terapeutică este redată în tabelul 4. Tratamentul simptomatic a constat în Codeină fosforică pentru combaterea tusei uscate, chinuitoare, Bromhexin pentru tuse cu expectorație, Algocalmin per os sau inj. pentru ameliorarea durerii toracice şi pentru hipertermie. În pneumoniile severe dispneizante am administrat Oxigenoterapie pe sondă nazală, 4-6 litri/min. (2 cazuri în trimestrul III).

Tabelul 4. Tratamentul aplicat gravidelor cu pneumonie

Trim. de sarcină	Nr. gravide	Tratament	Doză zilnică	Cale de administrare	Durată tratament
Trim.I	3	Ampicilină	4 g.	i.m.	7 zile
Trim.II	7	Ampicilină	4 g.	i.m.	10 zile
Trim.III	2	Ampicilină	4 g.	i.m.	10 zile
Trim.III	2	Ampicilină (4 g i.m.)+Cefuroxim (2 g per os)			10 zile

În perioada febrilă s-a recomandat repaus la pat în cameră bine aerisită, cu o temperatură constantă între 18-20 ^{o}C, bine umidificată. În această perioadă gravidele au primit o alimentație lichidă şi semilichidă, luându-se în considerație pierderile prin transpirație şi poliurie.

Rezultate şi discuții. Studiul evoluției gravidelor cu pneumonie a relevat o vindecare "in crisis" în 7-11 zile, cu transpirații, scăderea febrei, poliurie şi *restitutio ad integrum*. Evoluția bolii a fost scurtată sub tratament antibiotic. S-au urmărit efectele adverse, evoluția sarcinii şi naşterea prematură. Dintre cele 14 gravide studiate o gravidă a prezentat ca efect secundar la tratamentul asociat Ampicilină+Cefuroximă prurit şi o gravidă a avut naştere prematură. În cazurile

studiate nu s-a constatat apariţia complicaţiilor (locale: pleurezia serofibrinoasă parapneumonică, pleurezia purulentă, abcesul pulmonar, alungirea perioadei de rezoluţie cu tendinţă la fibroză; septice la distanţă: pericardita, endocardita, meningita, abcesul cerebral; toxice: hepatocitoliză, sindrom icteric, glomerulonefrită în focar, miocardite care pot evolua spre colaps sau insuficienţă cardiacă) (Trentin şi colab. 1999).

Concluzii. Studiul efectuat pe 14 gravide spitalizate pentru pneumonie bacteriană acută necesitând tratament intensiv cu antibiotice a arătat evoluţia favorabilă a acestora cu vindecare şi prognostic fetal bun în majoritatea cazurilor. Antibioticul de elecţie rămâne Ampicilina care se recomandă a fi administrată în doze mari pe cale intramusculară şi pe o perioadă de minimum 7 zile ţinându-se cont de evoluţia clinică. În cazurile severe se impune tratamentul asociat de antibiotice la alegerea acestora ţinându-se cont de trimestrul de sarcină şi de efectul teratogen. Spitalizarea promptă, tratamentul intensiv şi monitorizarea atentă clinică şi paraclinică asigură un prognostic favorabil atât pentru mamă cât şi pentru făt.

Bibliografie

1. ANNESI-MAESANO I., GULSVIK A., VIEGI G., Respiratory Epidemiology in Europe, European Respiratory Monograph, 2000, 5.
2. AUBIER M., FOURNIER M., PARIENTE R., Pneumologie, Medecine et Science, Flamarion, 1996.
3. BOIŞTEANU DANIELA, Course of Pneumoftysiology, "Carol Davila" University Press, Bucharest, 2001.
4. BOTNARU V., Pneumoniile, Firma editorial-poligrafică "Tipografia Centrală", Chişinău, Republica Moldova, 2001.
5. BOTNARU V., Bolile aparatului respirator, Firma editorial-poligrafică "Tipografia Centrală", Chişinău, Republica Moldova, 2001.
6. CHESTNUTT M. et al., *Lung*, in: Current Medical Diagnosis and Treatment (38th Ed), Appleton & Lange, USA, 1999.
7. GHIURU RODICA, URZICĂ DENISE, ONILOV S., Tratamentul cu antibiotice în complicaţiile infecţioase din sarcina diabetică, Lucrările primei Conferinţe Naţionale de Chimioterapie Antibacteriană, Antivirală şi Antifungică. Iaşi, 23-24 Septembrie, 1999, 167-168.
8. GHIURU RODICA, DANIELA BOIŞTEANU, Curs Practic de Medicină Internă, Vol. I, Bolile Aparatului Respirator, Edit. Junimea, Iaşi, 2002.
9. TRENTIN L., FACCO M., SEMENZANO G., Hypersensitivity pneumonitis, in: Occupational Lung Disorders, European Respiratory Monograph, 1999, 4, 11.

TRATAMENTUL CU CEFALOSPORINE ÎN FIBROMUL UTERIN

Denise Urzică, Carmen Mihalache, Cristina Dimitriu
Spitalul Clinic Obstetrică-Ginecologie „Cuza Vodă", Iaşi,
Spitalul Clinic de Urgenţe Iaşi – Clinica Chirurgie UMF „Gr. T. Popa"
Disciplina Farmacologie – UMF „Gr. T. Popa", Iaşi

Abstract
Twenty-two patients who underwent an elective total hysterectomy for uterine fibroids were included in the study. Of these, 12 patients were in the study group who received prophylactic cephalosporins and 10 patients were in the control group who received no treatment. A significant reduction in postoperative infection and febrile morbidity rates is demonstrated. Rates of febrile morbidity because of postoperative pelvic infection were reported as occurring in 17% of patients in the absence of prophylactic treatment and 11% of patients receiving perioperative antibiotic prophylaxis. The intravenous route of administration and single dose prophylaxis were significantly more effective when compared with the intramuscular route and multiple dose regimens in preventing infection. Postoperative fever was better prevented by a single higher dose (2 g) preoperative infection of cephalosporins.

Introducere

Complicaţiile infecţioase reprezintă riscul major al histerectomiei totale executate pentru fibromul uterin.

Datorită spectrului larg de acţiune antimicrobian, cefalosporinele sunt antibioticele cel mai frecvent prescrise în practica chirurgicală pentru tratament şi indicaţii profilactice.

Material şi metodă

Studiul a cuprins 22 femei cu fibrom uterin care au fost histerectomizate. Din acestea, 10 paciente au fost în grupul de studiu care au primit cefalosporine profilactic şi 12 au fost în grupul de control care nu au avut tratament.

Antibioticul de elecţie a fost cefotaxim (2 g) care s-a administrat intravenos preoperatoriu cu 60 minute înaintea inciziei parietale. Acesta a fost urmat de două doze adiţionale de 2 g la interval de 6 şi 12 ore după doza iniţială preoperatorie.

Am efectuat un studiu comparativ al infecției postoperatorii și al ratelor febrile de morbiditate la cele două grupe de paciente. Presupunând că prevalența infecției în afara tratamentului profilactic este de 25%, noi am considerat o reducere de cel puțin 50% a riscului infecției ca fiind semnificativă.

Incidența morbidității febrile datorită infecției pelvine postoperatorii a fost raportată ca intervenind în 17% din paciente, în absența tratamentului profilactic și de 11% la pacientele cu profilaxie antibiotică preoperatorie.

Febra postoperatorie a fost mai bine prevenită de o doză unică (2 g), preoperatoriu, de cefotaxim.

Calea intravenoasă și doza unică au fost mai eficiente atunci când au fost comparate cu administrarea intramusculară și regimurile de doze multiple.

Rezultate

Am realizat un experiment terapeutic statistic comparând morbiditatea infecțioasă după histerectomia totală la cele două grupe cu antibioprofilaxie cu cefalosporine și al doilea grup care nu a primit tratament.

Grupul tratat cu cefalosporine a relevat o rată de infecție semnificativ mai scăzută în comparație cu grupul de control.

Infecția parietală a fost complicația infecțioasă cea mai frecventă care a afectat 4 paciente în grupul de control.

Examenul bacteriologic al infecției parietale a relevat o predominanță a stafilococului auriu.

În grupul cu antibioprofilaxie am decelat 3 cazuri de inflamație simplă care nu au necesitat deschiderea plăgii operatorii față de numai două cazuri în grupul de control.

Factorii asociați cu un risc crescut de infecție posthisterectomie pentru fibromul uterin au fost:

1) durata operației,
2) abordarea abdominală,
3) absența profilaxiei cu antibiotice.

Durata medie de spitalizare a fost de 8 zile în grupul cu antibioprofilaxie, față de 10 zile pentru grupul de control.

Acțiunea prelungită a profilaxiei poate cauza modificările florei și ale altor microorganisme rezistente în proximitatea câmpului operator. Aceasta nu pare să aibă un impact semnificativ asupra eficacității profilaxiei cu cefalosporine.

În studiul efectuat, antibioprofilaxia a permis scăderea frecvenței morbidității infecțioase în histerectomiile considerate fără risc infecțios crescut. Rezultatele sunt în favoarea grupului care a primit antibioprofilaxie. Astfel, terapia antibiotică a permis scăderea morbidității infecțioase de la 37% la 14%. Eficacitatea a fost evaluată la 43%.

Discuţii

Datorită deschiderii cavităţii vaginale, histerectomia totală pentru fibromul uterin reprezintă o chirurgie contaminată.

Complicaţiile infecţioase legate de sediul operatoriu sunt reprezentate de abcesul parietal care are o frecvenţă ce variază între 2,7-6%.

Incidenţa complicaţiilor infecţioase severe (abcesul pelvin şi pelviperitonita) este de 0,7%.

Infecţiile grave sunt rare în prezent datorită antibioprofilaxiei.

Antibiotice diferite, care includ cefalosporine, s-au dovedit a fi eficiente în reducerea incidenţei infecţiilor şi extinderea morbidităţii după histerectomia pentru fibromul uterin.

Majoritatea autorilor recomandă administrarea pre- sau perioperatorie a unei doze unice de cefalosporine sau asocierea penicilină plus metronidazol sau acid acid clavulanic. De asemenea, se preferă drenajul subperitoneal.

În histerectomia abdominală, durata deschiderii cavităţii vaginale în spaţiul sub- şi intraperitoneal este redusă.

Chiar prin folosirea antibioticelor profilactice, morbiditatea febrilă postoperatorie şi infecţia sunt încă frecvente. Infecţiile postoperatorii au fost definite prin infecţii ale plăgii operatorii care necesită intervenţie chirurgicală (debridare).

Morbiditatea postoperatorie febrilă este frecventă ca urmare a histerectomiei pentru fibromul uterin.

Majoritatea surselor de infecţie posthisterectomie cuprind câmpul operatoriu.

Infecţiile tranşei vaginale se prezintă cu cel puţin două din următoarele simptome: temperatura peste 38°C după a treia zi postoperatorie, scurgeri fetide şi durere abdominală crescândă după cea de-a doua zi postoperatorie.

Deşi celulita pelvină şi celulita tranşei vaginale sunt destul de frecvente, evaluarea tranşei vaginale poate fi dificil de efectuat în perioada postoperatorie imediată. Există o diferenţă subtilă între sensibilitatea postoperatorie normală şi indurația produsă de o infecţie pelvină imediată sau a tranşei vaginale. Tranşa vaginală rămâne o cauză importantă a morbidităţii febrile posthisterectomie în fibromul uterin.

Posibilitatea de evaluare a tranşei vaginale în mod obiectiv postoperator rămâne limitată. Cultura tranşei vaginale nu poate fi credibilă deoarece contaminarea vaginală este frecventă.

Adesea, se evită efectuarea examenului pelvin în perioada postoperatorie imediată din cauza disconfortului pacientei şi dificultăţii de interpretare a rezultatelor.

Astfel, diagnosticul celulitei pelvine posthisterectomie şi al tranşei vaginale este unul de excludere.

Sonografia transvaginală poate furniza o oportunitate adiţională la studiul tranşei vaginale şi să definească modificările morfologice specifice legate de

morbiditatea febrilă postoperatorie. Este în general acceptat că antibioprofilaxia poate reduce semnificativ incidența morbidității febrile și infecțioase, precum și a duratei în unele operații ginecologice.

Flora vaginală este sediul modificărilor după tratamentul cu antibiotice în cursul histerectomiei totale. Există posibilitatea selecției anumitor germeni ca: enterococ, bacteroides, germeni gram negativi.

După introducerea lor în ginecologie, la începutul anilor 1980, antibioticele profilactice au suferit modificări continue privind tipul, doza, durata și calea de administrare.

Această evoluție este datorată faptului că eficacitatea, conduita de preferență și selectarea pacientelor este încă nestabilită.

Pentru profilaxia eficientă, este necesar ca populația bacteriană totală să fie redusă sub un anumit nivel critic, care să permită rezistenței naturale a organismului gazdă să-și exercite efectul protectiv.

Studiile recente au fost supuse metaanalizei ca să definească eficacitatea chemoprofilaxiei în prototipul operației ginecologice elective.

Rezultatele acestei metaanalize confirmă eficiența cefalosporinelor profilactice în histerectomia abdominală electivă pentru fibromul uterin. O reducere semnificativă a infecției postoperatorii și a morbidității febrile este demonstrată cu certitudine.

Ledger și colab. au relevat că un antibiotic ca să poată fi folosit pentru profilaxie trebuie să fie netoxic, activ împotriva germenilor cunoscuți și să se dovedească eficient în mai multe studii clinice.

Majoritatea cefalosporinelor îndeplinesc aceste criterii și, în consecință, au fost frecvent folosite în acest scop. În prezent, nu există o corelare între spectrul de acțiune al antibioticului și eficiența sa clinică pentru profilaxie.

Durke a stabilit că efectele profilactice optime sunt realizate atunci când concentrațiile inhibitorii ale unui antibiotic sunt prezente în țesut în momentul inoculării bacteriene.

Există o perioadă intraoperatorie de 3 ore în care apărarea țesutului nu este funcțională. În această perioadă, ar trebui ca antibioticul să fie prezent ca să augmenteze mecanismele deteriorate ale țesutului. Antibioticul trebuie să fie administrat preoperator, astfel încât să fie prezent în țesuturi în momentul inciziei. Ideal ar fi să nu se depășească timpul de apărare al țesutului alterat.

Profilaxia cu doză unică este eficientă și este asociată cu un potențial mai scăzut de reacții adverse. Ratele de succes profilactic pentru pacientele care primesc cefalosporine (Cefotaxim) variază între 90-95%.

Concentrația antibioticului în țesuturi în locul operației se realizează prin administrarea intravenoasă la momentul potrivit când apare contaminarea de vârf. Calea intravenoasă poate evita administrarea inutilă în cazul când tratamentul chirurgical trebuie amânat sau revocat.

Chemoprofilaxia cu cefalosporine s-a dovedit a fi eficientă în prevenirea complicațiilor infecțioase posthisterectomie.

Concluzie

Profilaxia cu antibiotice perioperator de scurtă durată reprezintă o metodă adjuvantă importantă de reducere a morbidităţii febrile şi infecţioase în histerectomia pentru fibromul uterin.

Calea de administrare intravenoasă şi doza unică sunt semnificativ mai eficiente în raport cu calea intramusculară şi dozele multiple în prevenirea infecţiei.

Bibliografie

1. BENAGIANO G., MORINI A., Fibroids: Overview of Current and Future Treatment. Br. J. Obstet. Gynecol. 1992, 99, 18.
2. CLASSEN C.D., EVANS R.S., The timing of prophylactic administration of antibiotics and the risk of surgical-wound infection. N. Engl. J. Med. 1992, 326, 281-286.
3. FARO S., Post-surgical infections – antibiotic trials. Curr. Opin. Obstet. Gynecol. 1990, 2, 682-689.
4. HEMSELL D.L., EDWARD R.J., Cefazolin for hysterectomy prophylaxis. Obstet. Gynecol. 1990, 76, 603-606.
5. HOUANG T.E., Antibiotic prophylaxis in hysterectomy. Drugs 1991, 41, 19-37.
6. NECHIFOR M., DIACONU E., Actualităţi în chimioterapia antibacteriană. 1999.
7. RUSSELL J., Uterine Surgery. In: Saunders W.B., Operative Gynecology. 1993
8. SHAPIRO M., MUNOZ A., Risk factors for infection at the operative site after abdominal hysterectomy. N. Engl. J. Med. 1992, 326, 281-286.
9. WTTEWAALL-EVELAAR W.E., Meta-analysis of randomized controlled trials of antibiotic prophylaxis in abdominal hysterectomy. Pharm. Weekbl. Sci. 1990, 12, 296-299.

TRATAMENTUL ANTIBIOTIC ÎN PNEUMONIILE EXTRASPITALICEŞTI (COMUNITARE)

Maria Puşchiţă, Virginia Gligor, Mihaela Glişici, Alciona Sasu
Universitatea de Vest "V. Goldiş", Arad, Facultatea de Medicina Generala

Abstract
Communitarian pneumonia are those pneumonia cought out of hospital. They differ from the nosocomial ones by the etiological agents and by the clinical symptoms, treatment and prognosis.
The antibiotic treatment is reccommeded by epidemiological, mycrobiological and clinical data - to be used in Streptococal Pneumonia (the most frequent germ of pneumonia) and/or *Mycoplasma Pneumoniae* and Cleamydia pneumonie. Antibiotics are given depending on comorbidity factors, age, clinial status, evolution of disease and the germ resistance. During the last years, an increase in the bacterial resistance was observed, especially one of the pneumococus, due to both of the unjustified prescription of antibiotics in viral infetions and to the exccesive use of a single type of antibiotics. So that, the antibiotherapy of comunitarian pneumonia uses three types of antibiotics: beta-lactamins, macrolides and tethracyclines. The cephalosporins and fluroquinolons are antibiotics with a large spectrum used in case of deterioration of the patient's status, depending on the age of the patient.

Introducere

Pneumoniile comunitare sunt definite ca pneumonii contractate în mediul extraspitalicesc, diferenţiindu-se de pneumoniile contactate în spital, numite şi nosocomiale, prin varietatea agenţilor patogeni, simptomatologie, diagnostic şi tratament şi mai ales prin prognosticul relativ bun al celor comunitare. Aproximativ 20% din pneumoniile comunitare necesită cel puţin o spitalizare. Incidenţa pneumoniilor comunitare a fost evaluată conform unui studiu din 1994 (1) între 1-3 la 1000 locuitori, dar poate ajunge până la 10-12 la 1000 la persoanele în vârstă şi la cei cu factori de risc. În majoritatea cazurilor, tratamentul este empiric, trebuie instituit cât mai precoce, în absenţa investigaţiilor microbiologice sau în aşteptarea rezultatelor în formele grave spitalizate. În scopul instituirii unui tratament antibiotic cât mai corect s-au luat în considerare numeroase studii epidemiologice, date microbiologice şi clinice, care au stat la baza ghidurilor de antibioterapie a

pneumoniilor comunitare, ghiduri comparabile de la o țară la alta în funcție de rezistența microbiană la antibiotice.

Principalii agenți patogeni implicați în producerea pneumoniilor extraspitalicești sunt: *Streptococcus pneumoniae, Haemophilus influenzae, Mycoplasma pneumoniae, Chlamydia pneumoniae, Legionella pneumophila* și virusul gripal (în proporție de 90%) și enterobacterii, pseudomonas și *Staphylococcus aureus*, cel mai frecvent implicați în pneumoniile nosocomiale (în proporție de 10%).

Streptococcus pneumoniae este considerat cel mai frecvent agent responsabil, circa o treime din totalul cazurilor și jumătate din cazurile confirmate bacteriologic. Hemophilus influenzae, situat pe locul al doilea ca frecvență, pare a fi supraestimat ca prevalență, luând în considerare colonizarea frecventă a căilor respiratorii inferioare cu acest agent, în special la fumători. *Mycoplasma* și *Chlamidia pneumoniae* sunt responsabili frecvent de pneumoniile atipice benigne sau medii grave la tineri și chiar grave la vârstnici. Incidența infecțiilor cu *Stapylococcus aureus* și enterobacterii este mult mai ridicată la vârstnicii peste 60 de ani și mai ales peste 75 de ani, la cei instituționalizați și/sau cu boli cronice.

Prevalența unor germeni este mai crescută în anumite situații:

- *Streptococcus pneumoniae, Haemophilus influenzae* și *Staphylococcus aureus* în infecția gripală;
- *Streptococcus pneumoniae, Klebsiella* și *Staphylococcus aureus* în alcoolism și diabet;
- *Staphylococcus aureus* și *Pseudomonas* în bronșiectazie;
- *Streptococcus pneumoniae, Haemophilus influenzae, Pneumocystis carinii* la cei infectați cu HIV, etc.

Tratamentul antibiotic de primă intenție în pneumonia comunitară

De-a lungul anilor s-a constatat o dezvoltare a rezistenței la antibiotice a unor agenți din mediul extraspitalicesc, în special în cazul Streptococcus pneumoniae și Haemophilus influenzae. A apărut succesiv rezistența la tetracicline, macrolide, fenicoli, cotrimoxazol și beta-lactamine a Streptococcus pneumoniae. Pneumococul începe să prezinte o sensibilitate redusă la Penicilină, dar per ansamblu crescută la beta lactamine, cu rezistențe variabile ale reprezentanților clasei: imipenemul are cea mai bună acțiune, urmat de cefotaximă, ceftriaxonă și amoxicilină (2). Fenomenul de rezistență bacteriană a apărut în cursul ultimilor ani, în special rezistența la antibiotice a pneumococului. Factorii care par a juca un rol în dezvoltarea rezistențelor sunt: prescrierea repetată și nejustificată a unei antibioterapii în cursul infecțiilor respiratorii banale, mai ales virale și tendința excesivă a prescrierii exclusive și excesive a unei familii de antibiotice în cursul infecțiilor respiratorii.

Diagnosticul de pneumonic nosocomială se bazează pe contextul clinic și pe radiografia toracică. În pneumonia comunitară diagnosticul este cel mai adesea

exclusiv clinic, deoarece radiografia toracică este efectuată inconstant din motive de ordin practic în perioada acută, doar 5% dintre pacienţi prezentând un sindrom pneumonic clar semiologic. În majoritatea cazurilor simptomatologia este mai frustă. Atunci când există semne de agravare şi/sau factori de comorbiditate, trebuie instituită antibioterapia în cazul infecţiilor cu pneumococ, *Haemophilus influenzae*, stafilococ auriu şi enterobacterii şi *Legionella pneumophila*, ca şi în formele benigne cu *Mycoplasma* şi *Chlamydia pneumoniae* la subiecţi tineri. În absenţa confirmării microbiologice, orientarea probabilă a tratamentului antibiotic se bazează pe date epidemiologice şi clinice şi pe criteriile de acceptabilitate a antibioticului: spectru, rezistenţă, factori de risc imuno-alergic şi nu în ultimul rând cost. Alegerea unui antibiotic de primă intenţie se face după tabloul clinic iniţial, gravitatea simptomatologiei şi terenul pacientului. Antibioterapia va fi revizuită a treia sau a patra zi şi se va prescrie un alt antibiotic sau o asociere în caz de eşec. Schemele terapeutice au în comun în mod obişnuit trei familii de antibiotice: beta lactamine, macrolide şi tetracicline. Antibioticele cu spectru mai larg, cefalosporinele sau fluorochinolonele, sunt justificate în funcţie de teren şi de gravitatea simptomatologiei.

Ghidurile Societăţii Toracice Americane şi recomandările canadiene disting patru situaţii cu tratamentul corespunzător:

- Pacienţii sub 60 de ani cu pneumonie fără factor de comorbiditate – tratament de primă intenţie: un macrolid sau o tetraciclină;
- Pacienţii cu pneumonie tratată extraspitalicesc, cu factor de comorbiditate şi/sau în vârstă de peste 60 de ani – cefalosporină de generaţia a II-a sau cotrimoxazol sau coamoxiclav cu/fără asociere de eritromicină sau un alt macrolid (claritromicină);
- Pacienţii spitalizaţi în funcţie de gravitatea simptomatologiei – cefalosporină de generaţia a II-a sau a III-a sau coamoxiclav cu/fără un macrolid;
- Pacienţii cu pneumonie foarte severă în terapie intensivă – cefalosporină de generaţia a III-a cu activitate pe piocianic sau un alt agent antipseudomonas de tip imipenem sau ciprofloxacin asociind un macrolid.

Tratamentul antibiotic ţintit în diverse pneumonii

- *Pneumonia cu pneumococ şi alţi streptococi*

Atunci când pneumococul este sensibil, tratamentul de referinţă în faţa unei infecţii de gravitate medie este administrarea de penicilină: fie Penicilină G (1.000.000 U.I. la 6 ore în perfuzie endovenoasă –pev), fie amoxicilină (1g de 3 ori pe 24 ore).

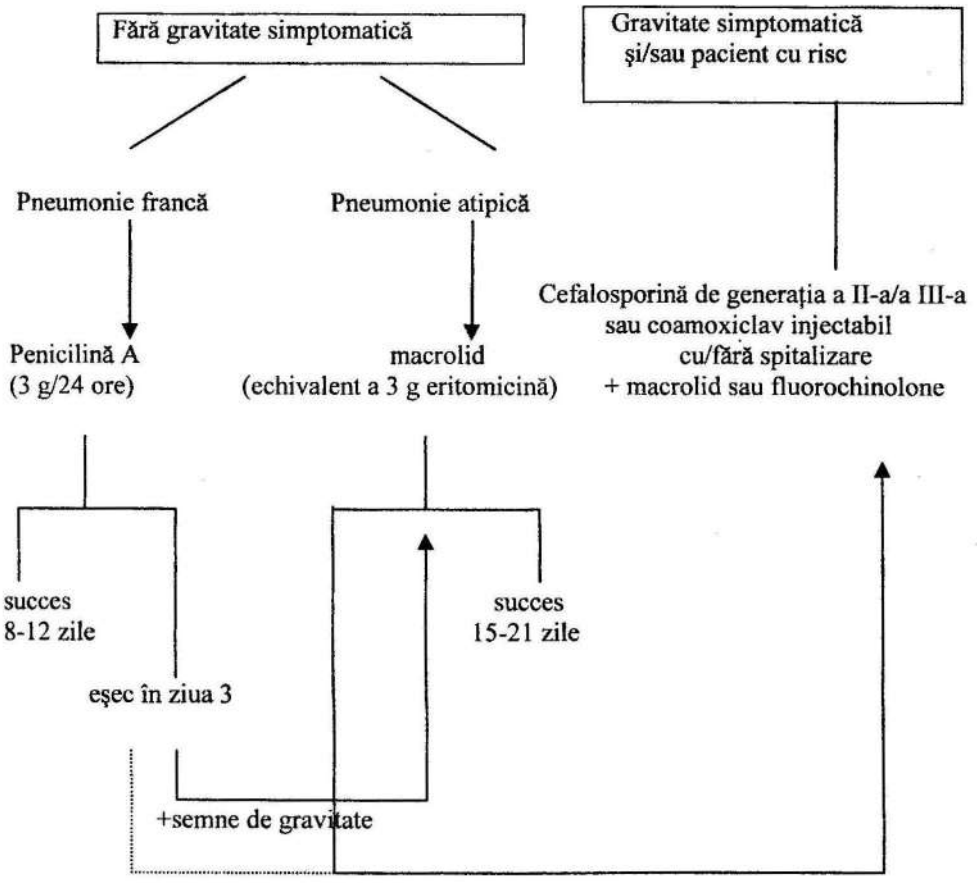


Fig. nr. 1. Antibioterapia de primă intenţie în pneumonia comunitară (4).

În cazul unei pneumonii grave ce necesită spitalizare se administrează Penicilina G (2.000.000 U.I. pev de 6 ori pe 24 ore) sau amoxicilină (1g de 6 ori pe 24 ore sau 2g de 3 ori pe 24 ore parenteral).

În prezenţa unei pneumonii foarte grave cu diseminări extrapulmonare (meningită, empiem, endocardită, artrită) tratamentul constă în doze crescute de Penicilina G (20.000.000 U.I. pe 24 ore) sau amoxicilină (150mg/kg/24 ore), timp de 10 zile.

În caz de alergie la Penicilină în formele grave se poate prescrie fie eritromicină (1g de 4 ori pe 24 ore pev), fie vancomicină (500mg de 4 ori pe 24 ore pev).

În cazul în care pneumococul este rezistent la antibioticele de mai sus, cele mai bune alternative sunt ceftriaxona (4g injectabil) sau cefotaxima (300mg/kg

injectabil) în 4 prize asociat cu vancomicină (2g pe 24 ore în pev continuă) sau imipenem. În cazurile penicilin-cefotaxim-ceftriaxon rezistente se asociază vancomicină (2g în pev continuă) şi fosfomicină (în pev de 4g în 4 ore de 3 ori pe 24 ore), eventual completată cu rifampicină (20mg/kg în 2 prize)(5).

- *Pneumonia cu Haemophilus influenzae*

Antibioticul de elecţie este o aminopenicilină (3g în 24 ore). În caz de aminopenicilin rezistenţă se administrează coamoxiclav sau o cefalosporină sau chiar o fluorochinolonă.

- *Pneumonia cu Legionella pneumophila*

Eritromicina este antibioticul de elecţie în doză de 3-4g pe 24 ore parenteral, urmat de calea orală timp de 2-3 săptămâni. Sunt foarte active şi fluorochinolonele. Cele două antibiotice pot fi asociate în formele grave şi la imunodeprimaţi.

- *Pneumonia cu Mycoplasma pneumonia, Chlamydiapneumoniae sau psitacci, Coxiella burnetti*

Pentru Mycoplasma cele mai eficiente sunt macrolidele şi ciclinele timp de cel puţin 15 zile. Tetraciclina este de elecţie în infecţia cu Chlamydia şi Coxiella burnetti. Foarte active sunt şi fluorochinolonele datorită excelentei difuziuni intracelulare.

- *Pneumonia cu Staphylococcus aureus*

Tratamentul de elecţie este oxacilina sau meticilina (1-2g la 4-6 ore) timp de 10-15 zile în formele necomplicate. În formele foarte severe se va asocia un aminoglicozid (tobramicina). Dacă agentul infecţios este meticilin- sau meticilin-aminoglicozid rezistent se administrează vancomicina eventual asociată cu fosfomicina.

În mediul extraspitalicesc în formele de gravitate moderată se poate înlocui oxacilina cu pristinamicina, dacă nu pot fi prescrise beta lactamine.

- *Pneumonia cu Klebsiella pneumoniae şi alte enterobacterii*

Se utilizează o cefalosporină de generaţia a III-a (cefotaxima, ceftriaxona, cefepima, cefpiroma) asociată în formele severe cu un aminoglicozid (gentamicina, tobramicina) sau o fluorochinolonă (ofloxacină, ciprofloxacină, sparfloxacina) menţinut timp de 8 zile după scăderea febrei, pe o perioadă de 2-3 săptămâni.

În caz de alergie la beta lactamine se asociază un aminoglicozid cu o fluorochinolonă. Cefalosporinele de generaţia a III-a, carboxipenicilinele şi ureidopenicilinele sunt foarte active pe enterobacterii.

Infecţiile cu *Serratia* şi *Enterobacter* vor fi tratate prin asocierea unei cefalosporine de generaţia a III-a, carboxipenicilină sau imipenem şi un aminoglicozid. În infecţia cu *Acinetobacter calcoaceticus* se asociază imipenem cu amikacină.

- *Pneumonia cu anaerobi*

Tratamentul de elecţie este Penicilina G (12.000.000 U.I.pe 24 ore). Bacteroides sunt sensibili la beta lactamine asociind un inhibitor de betalactamază. Clindamicina este foarte eficientă pe toţi anaerobii. Metronidazolul este activ pe

toate speciile de anaerobi, dar necesită asocierea Penicilinei G. Durata tratamentului este de minim 10 zile.

- *Pneumonia cu piocianic (Pseudomonas aeruginosa)*

Dacă este o suşă ticarcilin sensibilă se poate administra o carboxipenicilină (ticarcilină), o ureidopenicilină (piperacilină) sau o cefalosporină activă pe piocianic, obligatoriu asociindu-se un aminoglicozid sau o fluorochinolonă (ciprofloxacină).

În formele ticarcilin rezistente se poate prescrie o carboxipenicilină sau o ureidopenicilină asociată cu un inhibitor de beta lactamază (acid clavulanic). De elecţie se asociază ceftazidimă şi amikacină. În caz de eşec sau rezistenţă se înlocuieşte cefalosporina cu imipenem.

- *Pneumonia cu bacterii rare*

Tratamentul infecţiei cu *Moraxella catarrhalis* se poate face cu o cefalosporină, coamoxiclav, un macrolid sau o tetraciclină.

Pentru actinomicoze se utilizează Penicilină G 10-20.000.000 U.I. parenteral timp de 4-6 săptămâni, urmată de calea orală timp de 3-6 luni.

Se remarcă astfel că, în ultimii ani s-a constatat o creştere a rezistenţei bacteriene, în mod special a pneumococului, datorită atât prescrierii antibioterapiei nejustificate în infecţiile virale, cât şi utilizării excesive a unei singure clase antibiotice.

Pneumoniile comunitare sunt pneumoniile contractate în mediul extraspitalicesc. Ele se deosebesc de pneumoniile nosocomiale (spitaliceşti), atât prin agenţii patogeni care le produc, cât şi prin simptomatologie, tratament şi prognostic.

Bibliografie

1. MARRIE T.J. – Community-acquired pneumonia. Clin.Infect.Dis., 1994, 18 : 501-515.
2. GESLIN P. - Beta-lactamines et pneumocoques multiresistants isoles en France. Med. Et Hyg., 1995, 53 : 2111-2118.
3. CARBON C., LEOPHONTE P. – Management of community acquired pneumonia.
4. J. Antimicrob. Chemoth., 1998, 32 :1-3.
4. LEEPER K.V.JR., TORRES A. – Community-acquired pneumonia in the intensive care unit. Clin.Chest.Med., 1995, 16 : 155-171.
5. PALLARES R., et al. – Resistance to penicillin and cephalosporin and mortality from severe pneumococcal pneumonia in Barcelona. N.Engl.J.Med., 1999, 333 : 474-480.

OPȚIUNI TERAPEUTICE ÎN ENDOFTALMITELE POSTOPERATORII

D. Brănişteanu, D. Chiseliță, O. Chelaru,
O. Gagos-Zaharia, S. Loszadi
Disciplina Oftalmologie, Universitatea de Medicină şi Farmacie "Gr.T.Popa" Iaşi

Abstract
Objective: To evaluate the medical and surgical treatment results in postoperative endophthalmitis.
Methods: This retrospective study analyses the cases of postoperative endophthalmitis recorded in the files of Eye Clinic Iaşi, between January 2001 and September 2002.
23 cases of postoperative endophthalmitis are mentioned following 2,383 surgical procedures (2097 on the anterior segment and 286 on the posterior segment). Traumatic endophthalmitis related to penetrating lacerations with or without intraocular foreign body were excluded.
Acute postoperative endophthalmitis, in early 48 hours, was noted in 18 cases because of exudation in the anterior chamber and vitreous involvement. In 5 cases the diagnosis of chronic postoperative endophthalmitis was established because of late onset (between 10 days and 2 months postoperative) and vitreous involvement.
Results: 15 out of 18 cases of acute postoperative endophthalmitis were treated only with local broad spectrum antibiotics (eye drops and subconjunctival injections) and systemic cephalosporins and aminoglycosides. In 3 cases pars plana vitrectomy and intravitreal vancomycin injection has been performed because of massive exudation and lack of response to medical treatment.
Surgical approach was the first option in those 5 cases of chronic endophthalmitis. Intravitreal vancomycin and local broad spectrum antibiotics have been effective in those cases.
Local and systemic steroids were prescribed in all cases.
Conclusions: Postoperative endophthalmitis is one of the most serious complications following eye surgery. Intensive local treatment is enough to control the infection in most cases. Surgery is a new option with a triple advantage of removing material for culture and stain, of clarifying the vitreous and control of infection by direct intravitreal antibiotic injection.

Endoftalmita postoperatorie face parte din grupul endoftalmitelor exogene şi reprezintă una dintre cele mai grave complicații ale chirurgiei oculare. Incidența

acestor infecţii intraoculare cu efecte adesea devastatoare asupra prognosticului anatomic dar mai ales funcţional este în continuă scădere odată cu introducerea unor tehnici operatorii bine cuantificate şi care presupun deschiderea minimă a globului ocular. Se consideră astăzi că marea majoritate a endoftalmitelor postoperatorii sunt generate de agenţi patogeni din flora conjunctivală saprofită care contaminează mediile intraoculare în momentul intervenţiei chirurgicale, iar gravitatea procesului infecţios depinde de virulenţa germenului incriminat[1].

În funcţie de momentul apariţiei, endoftalmitele sunt clasificate în: acute (debut în prima săptămână postoperator) sau cronice (debut tardiv).

Vitrectomia posterioară prin pars plana combinată cu injectarea intravitreană de antibiotic reprezintă o alternativă modernă de tratament în endoftalmita postoperatorie[2]. Eficienţa sa este superioară tratamentului "clasic" (administrarea sistemică şi locală de asociaţii de antibiotice), în ceea ce priveşte controlul procesului infecţios şi recuperarea funcţională[3,7,8,9,10].

În cele ce urmează ne propunem să analizăm eficienţa tratamentului medicamentos şi chirurgical în endoftalmitele postoperatorii şi să identificăm factorii de risc incriminaţi în apariţia acestor infectii.

Material şi metodă:

În acest studiu retrospectiv am analizat cazurile de endoftalmită postoperatorie din cazuistica Clinicii I Oftalmologie Iaşi, din perioada ianuarie 2001 – septembrie 2002.

Ca urmare a celor 2.383 de intervenţii chirurgicale pe glob deschis, efectuate în acestă perioadă, s-au înregistrat 23 de cazuri de endoftalmită postoperatorie. Au fost excluse din studiu endoftalmitele exogene determinate de traumatisme penetrante cu sau fără retenţie de corp străin intraocular. Ponderea semnificativă a chirurgiei segmentului anterior (2.097 de cazuri), comparativ cu cea adresată segmentului posterior (286 de cazuri) este în concordanţă cu patologia chirurgicală mult mai frecventă a segmentului anterior.

Vârsta medie a pacienţilor din lotul studiat a fost de 74.6 ani, cu limite între 66 şi 81 de ani.

În 18 cazuri endoftalmita a debutat precoce, în primele 24-48 de ore postoperator, fiind diagnosticată datorită semnelor specifice de la nivelul segmentului anterior (congestie conjunctivală intensă, precipitate pe cornee şi iris, Tyndall al umorii apoase şi hipopion, membrane exsudative prelentale şi/sau retrolentale), dar şi posterior (opacităţi vitreene variabile). Din cele 18 cazuri, 15 au fost secundare chirurgiei pe segment anterior (cataractă – 7 cazuri, implantare secundară de cristalin artificial – 2 cazuri, glaucom – 2 cazuri, chirurgie combinată cataractă / glaucom – 4 cazuri) iar 3 cazuri au apărut după chirurgia segmentului posterior (dezlipire de retină regmatogenă complicată cu vitreoretinopatie proliferativă – 1 caz, retinopatie diabetică complicată cu dezlipire de retină prin tracţiune – 2 cazuri).

Cele 5 cazuri de endoftalmită cronică au fost diagnosticate între 10 şi 60 de zile postoperator (în medie 42 de zile), datorită semnelor de afectare a segmentului

posterior (vitros tulbure cu opacităţi multiple sau complet opacifiat) şi a segmentului anterior (precipitate pe cornee şi iris, abces inelar intracornean, hipopion, membrană exsudativă pre şi/sau retrolentală). Toate cele 5 cazuri au fost consecutive chirurgiei segmentului anterior (cataractă – 4 cazuri, glaucom – 1 caz).

Acuitatea vizuală a fost în medie de 0.03 (cu limite între "percepe mişcările mâinii" şi 0.07) în grupul endoftalmitelor acute şi de 0.02 (cu limite între "percepe mişcările mâinii" şi 0.04) în grupul endoftalmitelor cronice.

În cazul endoftalmitelor acute s-a instituit un regim terapeutic complex şi "agresiv" constând în administrarea de asociaţii de antibiotice cu spectru larg, local şi general[4,5]:

- instilaţii frecvente cu vancomicină 50mg/ml, ciprofloxacin 0.3%, prednisolon acetat 1%, atropină 1%;
- injecţii subconjunctivale (de 2-3ori/zi) cu corticosteroizi, atropină şi vancomicină 25mg/0.5ml sau ceftazidim 100mg/0.5ml;
- unguent oftalmic cu neomicină 3.500UI/g + polimixin B 6.000UI/g + dexametazonă 0.1% - pe durata nopţii;
- injecţie intravitreană unică cu vancomicină 1mg/0.1ml, în prima zi de la diagnosticare;
- administrare sistemică de cefalosporine, aminoglicozide si corticostroizi.

În endoftalmitele cronice s-a practicat per primam, sub anestezie locală, vitrectomie posterioară prin pars plana cu scopul de a îndepărta vitrosul opacifiat şi de a permite injectarea intravitreană, la şfârşitul intervenţiei, de vancomicină 1mg/0.1 ml. Postoperator cazurile au primit un regim medicamentos local şi general, asemănător endoftalmitelor acute.

Rezultate

Perioada de urmărire a cazurilor a fost cuprinsă între 3 şi 8 luni (în medie 6.4 luni).

În 15 din cele 18 cazuri de endoftalmită postoperatorie acută (83.33%) s-a observat o evoluţie favorabilă sub regimul terapeutic menţionat, în sensul dispariţiei treptate a modificărilor caracteristice şi ameliorării funcţionale încă din primele 48 de ore de la instituire. În celelalte 3 cazuri (16.66%) s-a constatat, fie o lipsă de răspuns la tratament (2 cazuri), fie o agravare netă (endoftalmita acută postoperatorie cu evoluţie fulminantă - 1 caz), ceea ce a impus efectuarea vitrectomiei posterioare cu injectarea intravitreană de vancomicină. În final, cele 2 cazuri rezistente iniţial la terapia medicamentoasă au evoluat favorabil, iar în cazul endoftalmitei cu evoluţie fulminantă procesul infecţios a fost controlat, dar funcţia vizuală s-a pierdut prin stop secretor şi complicaţii retiniene.

Acuitatea vizuală medie în acest grup s-a ameliorat de la 0.03 la 0.16 (cu limite între 0 şi 0.5).

După intervenţia chirurgicală şi regimul medicamentos postoperator, toate cele 5 cazuri de endoftalmită cronică au evoluat favorabil cu o ameliorare netă a

acuității vizuale medii de la 0.02 la 0.3 (cu limite între 0.08 şi 0.6). În 1 din cele 5 cazuri (endoftalmită cronică consecutivă operației de cataractă cu implantare de pseudofac de cameră posterioară) s-a putut observa, la 3 luni de la controlul infecției prin vitrectomie posterioară, o recidivă a procesului infecțios tradusă prin reapariția hipopionului şi a membranelor pre şi retrolentale. Cazul răspunde prompt la terapia locală cu antibiotice, cicloplegice şi corticosteroizi, dar există tendința la recidivă odată cu oprirea tratamentului, ceea ce pune în discuție explantarea pseudofacului în ideea îndepărtării germenilor cantonați în sacul capsular.

Analiza factorilor de risc în apariția endoftalmitelor a relevat faptul că 9 din cei 18 pacienți cu endoftalmită acută suferă de diabet zaharat iar alți 2 pacienți din acest grup se află sub terapie cronică anticoagulantă. 3 din cei 5 pacienți cu endoftalmită cronică au insuficiență cardiacă gravă (unul fiind protezat valvular). Nu în ultimul rand, chirurgia laborioasă (aşa cum este chirurgia combinată glaucom – cataractă sau cea din vitreoretinopatia proliferativă) reprezintă un factor de risc semnificativ.

Discuții

Incidența endoftalmitei postoperatorii depinde de tipul intervenției chirurgicale. Într-unul din cele mai importante studii efectuat în Statele Unite[5] s-a raportat o incidență care variază de la 0.073% (extracție extracapsulară a cristalinului şi implant de cameră posterioară) la 0.11% (transplant de cornee), 0.2% (chirurgia filtrantă în glaucom) şi 0.3% (implantarea secundară de cristalin). În ceea ce priveşte chirurgia segmentului posterior, în acelaşi raport este notată incidența endoftalmitei postoperatorii de 0.051% după vitrectomia posterioară prin pars plana.

Endoftalmitele postoperatorii acute sunt determinate în special de coci gram pozitivi, cel mai frecvent fiind incriminați *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus* şi *Streptococcus sp.* Germenii gram negativi şi fungii sunt responsabili de aproximativ 25% din totalul endoftalmitelor acute. Trebuie menționat faptul că germenii gram negativi generează infecții precoce şi cu evoluție gravă.

Endoftalmitele cronice sunt legate de bacili gram pozitivi, anaerobi ca *Propionibacterium acnes* şi unele specii de *Corynebacterium* sau bacili acidorezistenți, aerobi ca *Mycobacterium chelonae*, dar şi de fungi.

În prezența unei endoftalmite, indiferent de forma sa, este importantă prelevarea de lichid intraocular (umoare apoasă şi vitros) pentru examen pe lamă şi culturi. Deşi acest lucru este astăzi posibil şi în serviciul nostru, una din limitele majore ale acestui studiu este imposibilitatea efectuării acestora, la vremea respectivă, pe lotul studiat.

Întrucât marea majoritate a endoftalmitelor acute se manifestă ca infecții cu evoluție fulminantă, terapia inițială este empirică şi constă în administrarea "agresivă" de asociații de antibiotice cu spectru larg [4]. Chimioterapicul ideal în tratamentul endoftalmitelor ar trebui să fie bactericid, să aibă un spectru larg, să

prezinte un raport terapeutic excelent (eficienţă versus toxicitate) după administrarea intravitreană dar şi sistemică şi să aibă proprietăţi farmacocinetice bune (concentraţie eficientă pe perioadă îndelungată). Nici una din clasele terapeutice disponibile astăzi (cefalosporine, vancomicină, aminoglicozide, quinolone sau antifungice) nu îndeplineşte aceste cerinţe.

Mai mult decât atât, eficacitatea antibioticelor administrate general în controlul endoftalmitei este controversată, iar studii de laborator demonstrează o penetranţă oculară insuficientă a claselor hidrofile administrate sistemic (aşa cum sunt penicilinele, cefalosporinele şi aminoglicozidele)[6]. Cheia tratamentului în endoftalmită este reprezentată de atingerea unor concentraţii eficiente în cavitatea vitreană. Injectarea directă intravitreană a diverselor clase terapeutice reprezintă teoretic soluţia optimă, dar ea este limitată de toxicitatea lor retiniană. La ora actuală sunt disponibile în acest sens vancomicina (1mg/ 0.1 ml) si amikacina (0.4 microgr/ 0.1ml).

Rezultatele favorabile obtinute după vitrectomia posterioară prin pars plana au încurajat utilizarea pe scară largă a acesteia în endoftalmitele postoperatorii[9]. Există încă controverse în ceea ce priveşte indicaţiile şi momentul intervenţiei. Unii autori recomandă vitrectomia precoce în toate endoftalmitele, în timp ce alţii consideră că gestul chirurgical este recomandat doar atunci când se izolează germeni gram negativi, când răspunsul la regimul medicamentos este insuficient sau absent după 24-48 de ore şi retina nu poate fi examinată. Adepţii chirurgiei precoce în endoftalmită au drept prim argument o mai bună şansă de recuperare funcţională[7,8,9,10].

Concluzii

Regimul medicamentos disponibil astăzi este perfectibil dar permite controlul unui procent semnificativ de endoftalmite postoperatorii. Vitrectomia posterioară prin pars plana combinată cu injectarea intravitreană de antibiotic reprezintă opţiunea de elecţie pentru un control rapid al infecţiei şi o recuperare funcţională semnificativă în endoftalmitele cronice şi în cele acute cu evoluţie fulminantă sau care nu răspund la tratamentul medicamentos în primele 24-48 de ore. Chirurgia laborioasă şi comorbidităţile extraoculare severe cum sunt diabetul zaharat şi terapia cronică cu anticoagulante reprezintă factori de risc cu semnificaţie deosebită în apariţia acestor infecţii cu consecinţe extrem de grave asupra prognosticului funcţional.

Bibliografie

1. DOFT BH: The Endophthalmitis Study Group, Arch ophthalmol, 198:487, 1991
2. ENDOPHTHALMITIS VITRECTOMY STUDY (EVS) Group: Results of the endophthalmitis vitrous study: a randomized trial of immediate vitrectomy and of intravenous antibiotics for the treatment of bacterial postoperative endophthalmitis. Arch Ophthalmol 1995; 113; 1479-1496.

3. FLYNN HW, PULIDO JS, PFLUGFELDER SC: Endophthalmitis therapy: changing antibiotic sensitivity patterns and current therapeutic recommendations. Arch Ophthalmol 109:175, 1991.
4. KATTAN HM, FLYNN HW, PFLUGFELDER SC et al: Endophthalmitis survey. Ophthalmology, 1991; 98: 227-238.
5. O'DAY DM, HEAD WS, ROBINSON RD, STERN WH, FREEMAN JM: Intraocular penetration of systemically administered agents, Curr Eye Res 4:131-134, 1985.
6. PEYMAN GA, RAICHAND M, BENNET TO: Management of endophthalmitis with pars plana vitrectomy. Br J Ophthalmol 1980; 64: 472-475.
7. Results of the Endophthalmitis Vitrectomy Study. Arch. Ophthalmol. 2000; 118:1661-1665.
8. ROWSEY JJ, NEWSOM DL, SEXTON DJ et al: Endophthalmitis. Ophthalmology 1982; 89:1055-1066.
9. TALLEY AR, D'AMICO DJ, TALAMO JH et al: The role of vitrectomy in the treatment of postoperative endophthalmitis. Arch Ophthalmol 1987; 105:1699-1702.
10. VERBRAEKEN H, VAN LAETHEM J: Treatment of endophthalmitis with and without pars plana vitrectomy. Ophthalmologica 191:1-3, 1985.

TRATAMENTUL ULCERELOR INFECȚIOASE

Camelia Bogdănici, C. Lupaşcu, A. Preutesi, C. Ciobanu,
E. Şpac, C. Postolache, D. Chiseliţă
UMF "Gr. T. Popa" Iaşi, Clinica I Oftalmologie

Abstact
Purpose: To assess the results of the antibacterial, antiviral and antifungal therapy in the treatment of infectious ulcers.
Methods: Retrospective study, which include 136 cases. The patients were treated in Eye Clinic between January 1997 and December 2001. We have followed the agent involved, the clinic aspect, ophthalmologic investigation and the course after therapy.
Results: We have treated 82 cases of bacterial ulcers, 51 cases of viral ulcers and 3 cases of fungal ulcers. There was a slight preference for male gender. The most used antibiotics agents in bacterial ulcers were Ceftazidim, Cloramfenicol and Gentamicine.
In the viral ulcers we have used Acyclovir and Trifluridine but fungal ulcers didn't benefit of a specific treatment due to lack of antifungal agents.
The course was favorable for 85.3% of cases and unfavorable for 14.7%. The complications were: corneal perforation, corneal scary and ftisis bulbi.
Conclusions: The microbial ulcers have a favorable course under topic therapy. The viral ulcers have long persisting course, with frequent recurrences and evolution is often uncontrollable.

Introducere

Ulcerele infecţioase, cunoscute şi sub numele de keratite infecţioase superficiale, reprezintă cea mai frecventă manifestare clinică a patologiei corneene. Incidenţa keratitelor variază în funcţie de etiologie: în timp ce keratitele bacteriene sunt cele mai des întâlnite, atât în ţările dezvoltate (în special la purtătorii de lentile de contact), cât şi în ţările slab dezvoltate, keratitele fungice rămân încă o opţiune rară de diagnostic. Forma cea mai comună a keratitelor virale este cea determinată de virusul Herpes simplex.

În cursul evoluţiei, keratitele infecţioase se pot vindeca ad integrum, dar atunci când terapia este aplicată tardiv pot apărea complicaţii ireversibile: leucomul cornean, astigmatismul neregulat sau perforaţia corneană, cu pierderea integrităţii globului ocular.

Scopul lucrării de faţă este cel de a evalua profilul clinic şi microbiologic al ulcerelor infecţioase, precum şi eficienţa tratamentului utilizat.

Material şi metodă

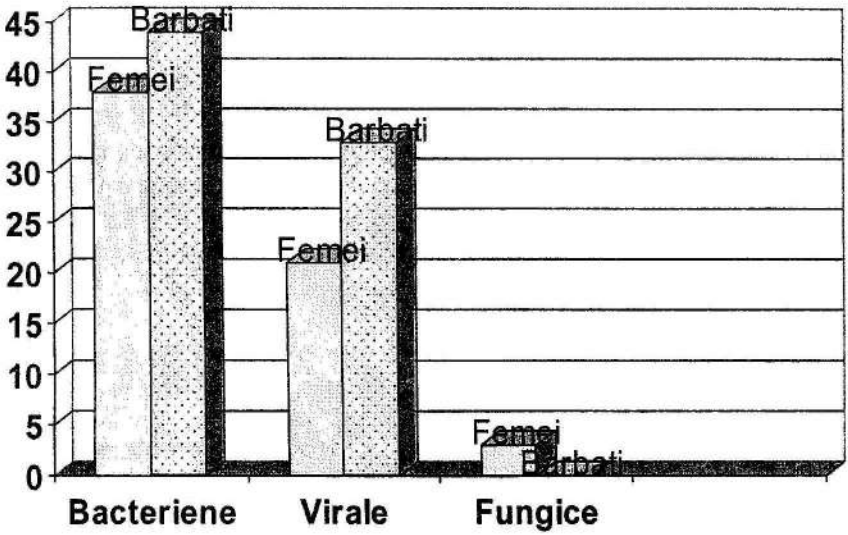
Lucrarea reprezintă un studiu retrospectiv pe o perioadă de 5 ani (ianuarie 1997-decembrie 2001) pe 136 de cazuri selectate din pacienţii internaţi şi trataţi la Clinica I Oftalmologie, Spitalul „Sfântul Spiridon" Iaşi. Marea majoritate a cazurilor a fost reprezentată de ulcere bacteriene (79 de cazuri – reprezentând 58%) şi virale (54%) şi doar 3 pacienţi au fost confirmaţi cu diagnosticul de ulcer fungic.

Parametrii clinici urmăriţi au fost reprezentaţi de: factorii predispozanţi, aspectul clinic, agenţii etiologici incriminaţi, complicaţiile apărute în cursul evoluţiei precum şi răspunsul la terapia instituită. Toate cazurile selectate au avut consemnat în foaia de observaţie minim un control. Datele au fost prelucrate statistic folosindu-se testul t, coeficientul Spearman şi testul Kolmogorov-Smirnov.

Rezultate

Repartiţia cazurilor pe sexe evidenţiază predominanţa cazurilor de sex masculin (fig. 1), mai evidentă la ulcerele virale (raport B:F = 3:2); în cazul ulcerelor fungice, toate au fost prezente la femei.

Fig. 1. Repartiţia cazurilor pe sexe



Majoritatea pacienţilor au fost cuprinşi în intervalul de vârstă 40 - 75 ani (cu limite între 6 şi 81 ani), cu un vârf între 60-70 ani pentru keratitele bacteriene şi între 50 - 60 ani pentru keratitele virale (fig. 2, 3 şi 4). Vârsta medie a cazurilor a fost de 51,57 ani.

Fig. 2. Repartiția cazurilor pe vârstă (keratite bacteriene)

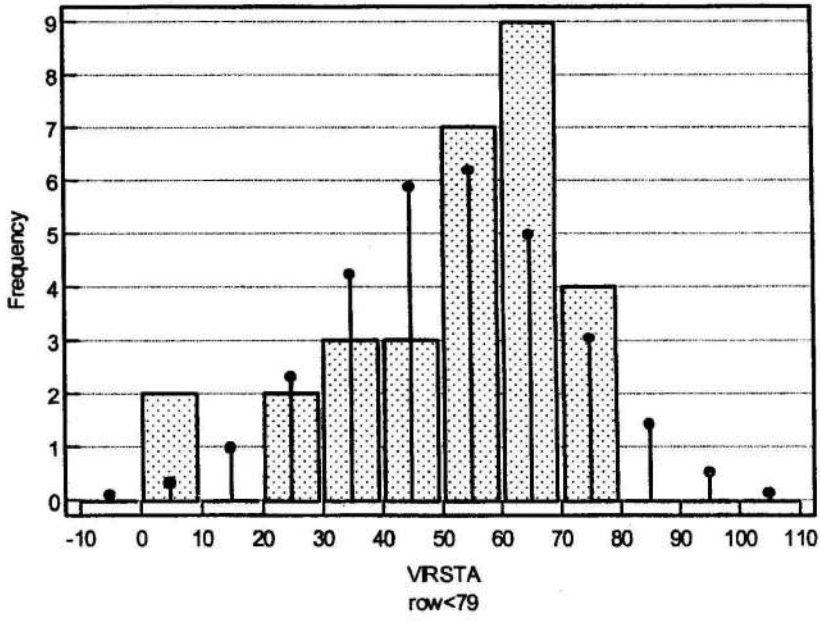


Fig. 3. Repartiția cazurilor pe vârstă (total cazuri)

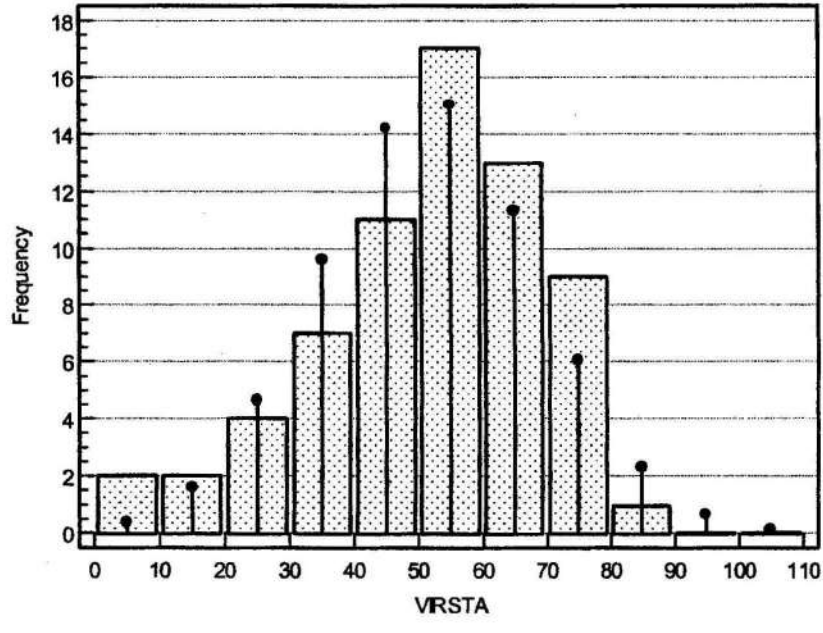
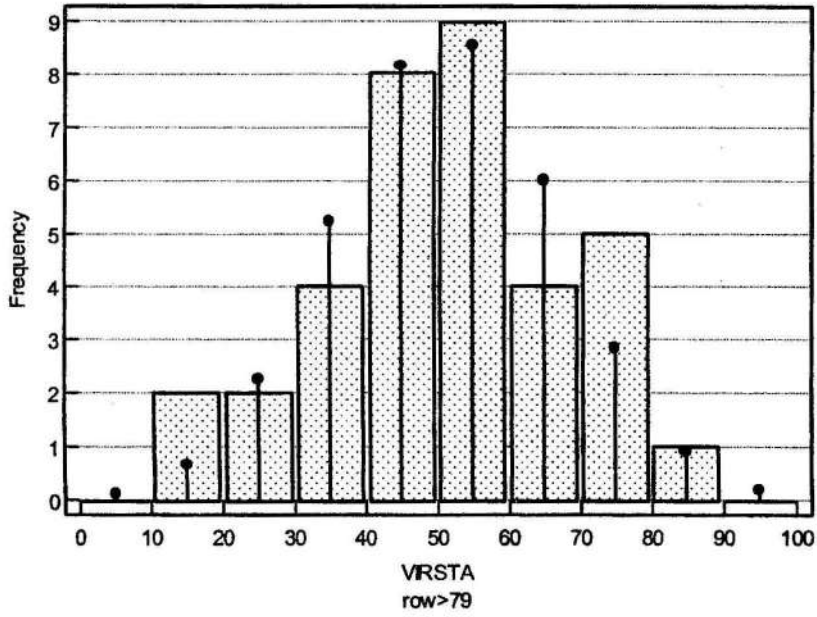


Fig. 4. Repartiția cazurilor pe vârstă (keratite virale)



Adesea cazurile internate au fost tratate înainte de internare, pentru câteva zile, în ambulatoriu. Din acest motiv antibiograma a fost pozitivă doar la 20.3% din cazuri. Cel mai frecvent agent etiologic găsit fost Stafilococul auriu, urmat de Stafilococul coagulazo-negativ şi de pneumococ. Examenul micotic a evidenţiat, în toate cele 3 cazuri de keratită fungică, *Aspergillus*. Ulcerele virale nu au beneficiat de teste paraclinice specifice, diagnosticul fiind stabilit clinic. În 92.6% din cazuri etiologia a fost Herpes simplex şi doar în 7.4% din cazuri virusul varicelo-zosterian.

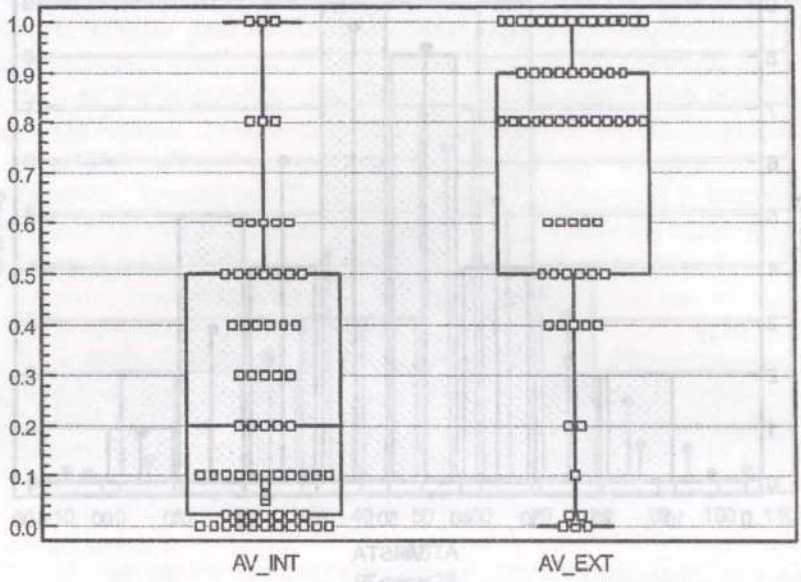
Cei mai frecvenţi factori predispozanţi care au determinat ulcerele infecţioase au fost: traumatismele minore oculo-palpebrale, afecţiunile inflamatorii palpebrale (blefaritele), anomaliile de poziţie palpebrală precum şi portul lentilelor de contact.

Aspectul clinic a fost esenţial pentru stabilirea diagnosticului. La ulcerele bacteriene, forma de ulcer central a fost prezentă în 61.19% din cazuri, urmată de cea periferică (24.39%) şi paracentrală (13.41%).

În studiu au fost incluse doar keratitele virale cu aspect dendritic, atât pentru cele herpetice cât şi keratitele din zona zoster oftalmică.

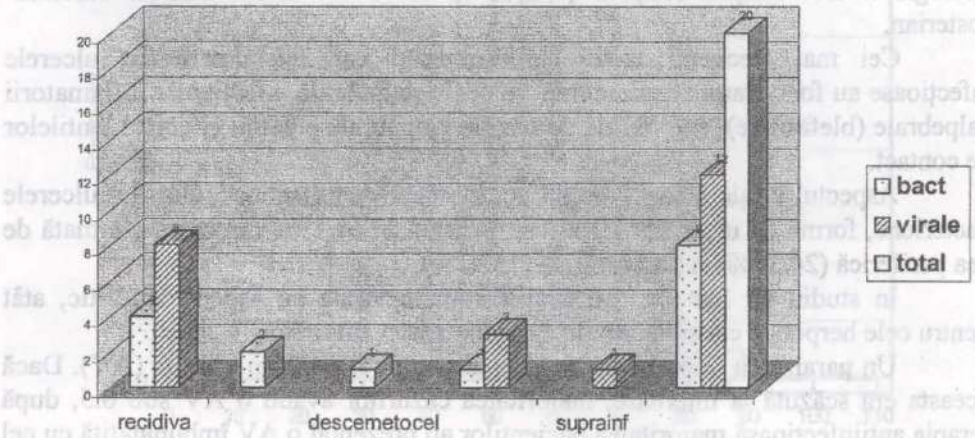
Un parametru important a fost cel al evoluţiei acuităţii vizuale (AV). Dacă aceasta era scăzută la internare, majoritatea cazurilor având o AV sub 0.5, după terapia antiinfecţioasă majoritatea pacienţilor au prezentat o AV îmbunătăţită cu cel puţin două linii (fig. 5).

Fig. 5. Comparație între av la externare și av la internare



Complicațiile apărute în 14.7% din cazuri, în ciuda tratamentului instituit, au fost reprezentate de: recidivă – 60% din totalul cazurilor cu complicații, leucom cornean (20%) sau perforație (10%) (fig. 6).

Fig. 6. Complicatii



Tratamentul ulcerelor infecţioase a urmat 3 etape: etiologic, patogenic şi simptomatic.

În tratamentul ulcerelor bacteriene s-a urmărit realizarea a 4 deziderate: instituirea unui tratament antibiotic cu spectru larg de acţiune (chiar înainte de rezultatul antibiogramei), care să aibă un efect rapid şi eficace şi care să determine o rezistenţă minimă, cu cea mai bună tolerabilitate.

Pe primul loc în terapia cu antibiotice s-au clasat aminoglicozidele: Gentamicina, Tobramicina, Neomicina (utilizate local în instilaţii foarte frecvente la începutul terapiei şi apoi la 6 ore interval). Au urmat : cefalosporinele, fluorochinolonele (de tipul Ciprofloxacină, Ofloxacină) şi foarte frecvent Cloramfenicolul. Tratamentul antibiotic sistemic a fost utilizat doar când au apărut complicaţii severe de tipul perforaţiei corneene.

Tratamentul antiviral instituit a depins în mare măsură şi de tipul de antiviral cel mai uşor de procurat. În acest sens s-a utilizat mai frecvent Acyclovir, urmat de Idoxuridină şi Trifluridină. S-a ţinut cont şi de aspectul clinic existent la internare.

Dacă în literatură sunt citate antifungice locale, noi nu am avut la dispoziţie nici un antifungic local standardizat pe care să-l utilizăm. S-au administrat sistemic Ketoconazol® şi Diflucan®.

Discuţii

Keratitele infecţioase reprezintă una din principalele cauze de orbire în lume. În majoritatea cazurilor, complicaţiile acestor afecţiuni se pot preveni astfel încât diagnosticul şi tratamentul adecvat reprezintă o problemă esenţială pentru oftalmologul practician.

Diagnosticul prezumptiv al keratitelor infecţioase se bazează în principal pe istoric şi examinarea clinică însă confirmarea etiologiei infecţioase se face prin examinarea prelevatului cornean (colorație Gram-Giemsa şi culturi). În practică, identificarea specifică a microorganismului implicat şi a sensibilităţii la antibiotice sunt necesare numai în cazul eşecului tratamentului antibiotic instituit precoce. Circa 95% din ulcerele bacteriene răspund favorabil la un antibiotic bine ales iniţial, modificarea tratamentului fiind rar necesară. Biopsia corneană este indicată în cazurile în care evoluţia este nefavorabilă în ciuda tratamentului instituit, când identificarea microorganismului este incertă sau examinarea prelevatului cornean convenţional nu oferă suficiente date.

Microorganismele implicate în etiologia keratitelor bacteriene sunt: coci gram pozitivi (stafilococ, strptococ), bacili gram negativi (bacillus aureus), propionibacili gram negativi (pseudomonas), enterobacteriacee (E.coli), coci gram negativi (neisseria).

Tratamentul are ca obiective stoparea proliferării bacteriene, reducerea inflamaţiei şi favorizarea cicatrizării corneene. Terapia antibiotică trebuie iniţiată prompt. Se preferă administrarea topică (picături, injecţii subconjunctivale).

Administrarea sistemică este indicată în cazurile complicate cu sclerite sau când există risc de perforație sau endoftalmită. Antibioterapia trebuie instituită înainte de a fi disponibile rezultatele examinării de laborator (deşi controversată aceasta este opinia majorității practicienilor; un argument în favoarea preterapiei ar fi faptul că după identificarea microorganismului implicat se pot face ajustări ale terapiei conform antibiogramei).

Frecvența administrării antibioticelor trebuie corelată cu: mărimea ulcerului, poziția acestuia, prezența unui infiltrat stromal perilezional, prezența exudatului din camera anterioară (Murillo-Lopez FH, 2001 şi Varma R, 1997).

Dintre fluoroquinolone se utilizează frecvent ciprofloxacin şi ofloxacin (3mg/mL). Cele mai utilizate aminoglicozide sunt gentamicina şi tobramicina (se preferă preparatele fortifiate – 10 până la 20 mg/mL).

În formele severe se pot folosi Cefazolin sau Ceftazidime (50-200 mg/mL), care au o activitate atât pe germenii gram pozitivi cât şi gram negativi (Hyndiuk RA and colab. 1996 şi Leibowitz HM 2001). Cloramfenicolul are încă o largă utilizare şi în prezent.

Semne precoce de evoluție favorabilă includ: stabilizarea ariei afectate şi a profunzimii infiltratului inflamator cu reducerea activității marginilor ulcerului. Ulterior se produce cicatrizarea progresivă a defectului epitelial, reducerea edemului cornean şi a infiltratului, reducerea reacției inflamatorii a camerei anterioare. Tratamentul trebuie continuat până ce epiteliul este complet vindecat.

Ca terapie adjuvantă: corticosteroizi (utilizarea controversată), agenți cicloplegici şi cicatrizante corneene (Bower KS and colab, 1996 şi Goldstein MH and colab. 1999).

Virusurile ce pot cauza mai frecvent ulcerele corneene cu morbiditate oculară importantă sunt: herpes simplex, varicelo-zoster. Leziunile cicatriciale corneene şi scăderea acuității vizuale datorate infecției virale este mai curând rezultatul recurențelor frecvente decât rezultatul infecției virale primare. Agenții antivirali, administrați topic sau oral, sunt prescrişi pentru a inhiba replicarea virală în celulele infectate (Kaufman and colab. 1998, Romanowski and colab. 1999 şi Liesegang 2001). Pentru inhibarea virusului Herpes simplex pot fi utilizate Trifluridine soluție oftalmică 1% şi Idoxuridine (în special în atacul inițial) (Wang 2002). Cel mai utilizat este Acyclovirul, fie în soluție oftalmică sau sub formă de unguent oftalmic 3%, datorită penetrabilității corneene transepiteliale foarte bune şi toxicității reduse comparativ cu a altor agenți antivirali. În cazurile severe se utilizează în prezent Famcyclovirul 250-500 mg sau Valacyclovirul 1000 mg (Gaynor and colab. 2000, Tambasco and colab. 1999, 6 şi 7).

Keratitele fungice rămân pentru oftalmolog rarități de diagnostic şi de tratament (Alexandrakis 2002 şi Mabon 1998). Ele cauzează leziuni corneene importante, de aceea este necesară şi extrem de importantă recunoasterea şi instituirea unei terapii prompte şi agresive. Suspiciunea trebuie ridicată atunci când există elemente importante în istoric: afecțiuni sistemice sau cornneene preexistente ce compromit imunitatea gazdei, utilizarea cronica de cortisteroizi,

traumatisme cu corpi străini vegetali, iar solicitarea confirmării din partea laboratorului, trebuie facută numai în prezenţa acestora (culturi specifice).

Eficacitea antifungicelor disponibile în oftalmologie este limitată, existând o rată crescută a eşecului tratamentului.

Există trei grupe de antifungice utilizate în oftalmologie: poliene (amfotericina B), imidazoli (clotrimazol, ketoconazol) şi triazoli (fluconazol) şi pirimidine (flucitozină).

Antifungicele cele mai utilizate sunt Natamycinul ca medicament de elecţie pentru Fusarium, Aspergillus. Urmează Amfotericina B 0,1-0,25%, Ketoconazol 200mg, Fluconazol 100-200 mg. Antifungicele pot fi folosite şi în administrarea sistemică (Guzek and colab. 1998) cunoscut fiind faptul că în general complicaţiile keratitelor fungice sunt foarte severe (Weissgold and colab. 1998).

Concluzii

Ulcerele bacteriene au avut un prognostic mai bun sub tratament local atunci când terapia a fost instituită rapid. Ulcerele virale sunt în general trenante, cu recidive frecvente, iar evoluţia ulcerelor fungice este adesea necontrolabilă şi greu de tratat specific.

Bibliografie

1. ALEXANDRAKIS G: Keratitis fungal. e-medicine/Ophthalmology 2002, 1-13.
2. BOWER KS, KOWALSKI RP, GORDON YJ: Fluoroquinolones in the treatment of bacterial keratitis. Am J Ophthalmol 1996 Jun; 121(6): 712-5.
3. GAYNOR BD, MARGOLIS TP, CUNNINGHAM ET: Advances in diagnosis and management of herpetic uveitis. Int Ophthalmol Clin 2000 Spring; 40(2): 85-109.
4. GOLDSTEIN MH, KOWALSKI RP, GORDON YJ: Emerging fluoroquinolone resistance in bacterial keratitis: a 5-year review. Ophthalmology 1999 Jul; 106(7): 1313-8.
5. GUZEK JP, ROOSENBERG JM, GANO DL, WESSELS IF: The effect of vehicle on corneal penetration of triturated ketoconazole and itraconazole. Ophthalmic Surg Lasers 1998 Nov; 29(11): 926-9.
6. HERPETIC EYE DISEASE STUDY GROUP: Oral acyclovir for herpes simplex virus eye disease: effect on prevention of epithelial keratitis and stromal keratitis. Arch Ophthalmol 2000 Aug; 118(8): 1030-6.
7. HERPETIC EYE DISEASE STUDY GROUP: Acyclovir for the prevention of recurrent herpes simplex virus eye disease. N Engl J Med 1998 Jul 30; 339(5): 300-6.
8. HYNDIUK RA, EIFERMAN RA, CALDWELL DR: Comparison of ciprofloxacin ophthalmic solution 0.3% to fortified tobramycin-cefazolin in treating bacterial corneal ulcers. Ciprofloxacin Bacterial Keratitis Study Group. Ophthalmology 1996 Nov; 103(11): 1854-62; discussion 1862-3.
9. KAUFMAN HE, VARNELL ED, THOMPSON HW: Trifluridine, cidofovir, and penciclovir in the treatment of experimental herpetic keratitis. Arch Ophthalmol 1998 Jun; 116(6): 777-80.
10. LEIBOWITZ HM: Clinical evaluation of ciprofloxacin 0.3% ophthalmic solution for treatment of bacterial keratitis. Am J Ophthalmol 1991 Oct; 112(4 Suppl): 34S-47S.
11. LIESEGANG TJ: Herpes simplex virus epidemiology and ocular importance. Cornea 2001 Jan; 20(1): 1-13.

12. MABON M: Fungal keratitis. Int Ophthalmol Clin 1998 Fall; 38(4): 115-23.
13. MURILLO-LOPEZ FH: Keratitis bacterial. e-medicine/Ophthalmology 2001, 1-17.
14. PANDA A, SHARMA N, DAS G, et al: Mycotic keratitis in children: epidemiologic and microbiologic evaluation. Cornea 1997 May; 16(3): 295-9.
15. ROMANOWSKI EG, BARTELS SP, GORDON YJ: Comparative antiviral efficacies of cidofovir, trifluridine, and acyclovir in the HSV-1 rabbit keratitis model. Invest Ophthalmol Vis Sci 1999 Feb; 40(2): 378-84.
16. TAMBASCO FP, COHEN EJ, NGUYEN LH, et al: Oral acyclovir after penetrating keratoplasty for herpes simplex keratitis. Arch Ophthalmol 1999 Apr; 117(4): 445-9.
17. VARMA R, eds: Cornea/external diseases. Essentials of Eye Care: The Johns Hopkins Wilmer Handbook. Lippincott Williams & Wilkins; 1997:152-203.
18. YANOFF M, DUKER JS : Ophthalmology 2000; 227-238.
19. WANG JC, RITTERBAND DC: Keratitis viral. e-medicine/Ophthalmology 2002, 1-13.
20. WEISSGOLD DJ, ORLIN SE, SULEWSKI ME, et al: Delayed-onset fungal keratitis after endophthalmitis. Ophthalmology 1998 Feb; 105(2): 258-62.

EVALUAREA UNOR CITOKINE PROINFLAMATORII ŞI A PROCALCITONINEI LA BOLNAVI CU COMPLICAŢII NEUROLOGICE ÎN SEPSIS

M. Cojocaru[1], I. M. Cojocaru[2], C. Muşuroi[2], S. Iacob[3]
[1]*Spitalul Clinic Colentina, Laboratorul Clinic Central*
[2]*Universitatea de Medicină şi Farmacie "Carol Davila", Clinica de Neurologie, Spitalul Clinic Colentina*
[3]*Institutul de Boli Infecţioase "Matei Balş" Bucureşti*

Abstract
Some mediators of inflammation are associated with sepsis, involving nervous system. Investigations of proinflammatory cytokines of TNF-α, IL-6, and IL-8, and of procalcitonin (PCT), proinflammatory protein, in patients with neurologic complications in sepsis. TNF-α, IL-6, IL-8, and PCT were prospectively investigated in 62 patients with neurologic complications in sepsis. TNF-α and IL-6 were studied both in serum as in the CSF, IL-8 and PCT were studied only in serum. TNF-α, IL-6, and IL-8 were studied by ELISA (R&D Systems), and the PCT by immunoluminometric assay (BRAHMS). Mean value of TNF-α in serum was 578±214 pg/ml, and in CSF was 458±167 pg/ml ($p<0.01$). Mean value of IL-6 in serum was 749±213 pg/ml, and in CSF was 617.5±182 pg/ml ($p<0.01$). Mean value of IL-8 in serum was 332±196 pg/ml ($p<0.01$). Mean value of PCT in serum was 80±16 ng/ml ($p<0.01$). The investigated parameters do not permit the identifying of cases with neurologic complications. The increased correlation coeficient between cytokines in serum and in CSF suggests the damage of the blood-brain barrier. The raise of PCT in serum, induced by TNF-α and IL-6, is an argument of the severity of sepsis.

Introducere

Afectarea sistemului nervos central şi periferic survine frecvent în cursul sepsisului. Unii mediatori ai inflamaţiei sunt asociaţi cu sepsisul, afectând sistemul nervos.

Obiectivul lucrării

Investigarea citokinelor proinflamatorii TNF-α, IL-6 şi IL-8 şi a procalcitoninei (PCT), proteină proinflamatorie, la pacienţi cu complicaţii neurologice în sepsis.

Material şi metodă

Au fost investigate prospectiv TNF-α, IL-6, IL-8 şi PCT la 62 pacienţi cu complicaţii neurologice în sepsis, diagnosticaţi conform criteriilor ACCP/SCCN, Consensus Conference, 1992, (grupa I), comparativ cu 41 pacienţi fără complicaţii neurologice (grupa II) şi cu 23 martori (grupa III).

TNF-α şi IL-6 au fost determinate atât în ser, cât şi în LCR, iar IL-8 şi PCT au fost determinate numai în ser.

TNF-α, IL-6 şi IL-8 au fost determinate prin metoda imunoenzimatică, varianta ELISA (R&D Systems), iar PCT prin metoda imunoluminometrică (BRAHMS).

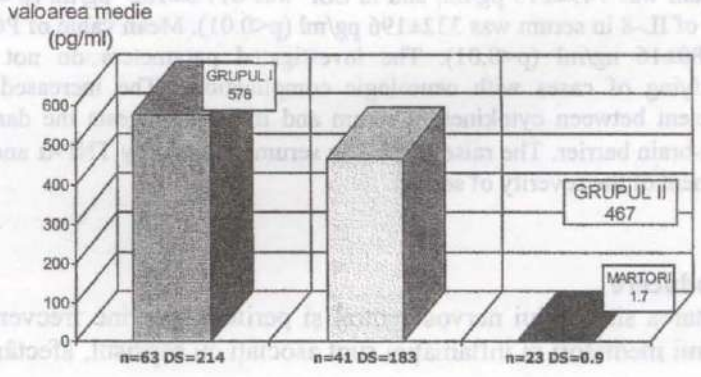
Rezultate

În grupa I au fost 33 bărbaţi şi 29 femei, în grupa II 18 bărbaţi şi 23 femei şi în grupa III 16 bărbaţi şi 7 femei.

Vârsta medie a fost la grupa I 65 ani, la grupa II 57 ani şi la grupa III 43 ani.

Complicaţiile neurologice în sepsis au fost următoarele: encefalopatie septică-19 cazuri, complicaţii neuromusculare-43 cazuri (polineuropatie-31 cazuri, miopatie caşectică-7 cazuri, miozită-5 cazuri).

Valoarea medie a TNF-α în ser la grupa I a fost 578±214 pg/ml ($p<0.01$), la grupa II a fost 467±183 pg/ml ($p<0,01$) şi la grupa III a fost 1,7±0,9 pg/ml (cut off point>40 pg/ml). Între grupa I şi grupa II $p>0,05$ (Fig. 1).

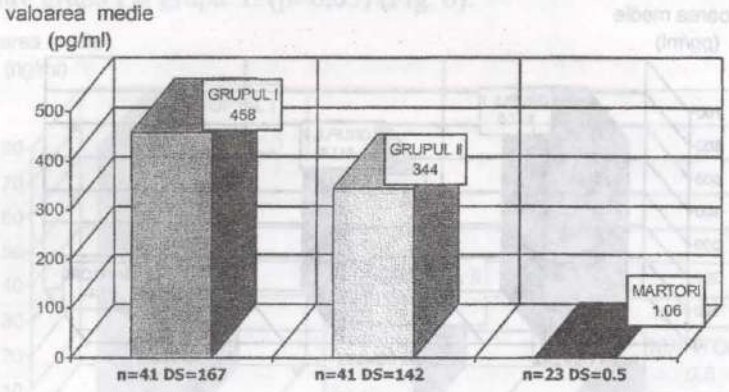


$p<0.01$ $p<0.01$

grupul I vs. grupul II $p>0.05$

Fig. 1. Valoarea medie a TNF-α în ser la grupul I, la grupul II şi la martori

Valoarea medie a TNF-α în LCR a fost la grupa I 458±167 pg/ml (p<0,01), la grupa II 344±142 pg/ml (p<0,01), iar la grupa III 1,06±0,5 pg/ml; între grupa I şi grupa II p>0,05 (Fig. 2).

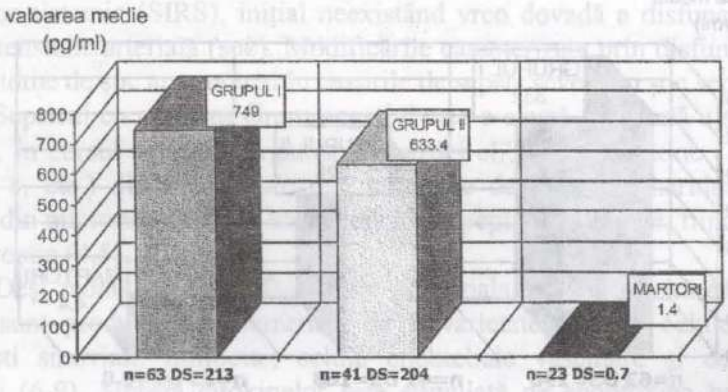


p<0.01 p<0.01
grupul I vs. grupul II p>0.05

Fig. 2. Valoarea medie a TNF-α în LCR la grupul I, la grupul II şi la martori

Valorile medii ale TNF-α în ser şi în LCR au prezentat un coeficient de corelaţie crescut (r=0,73) la grupa I.

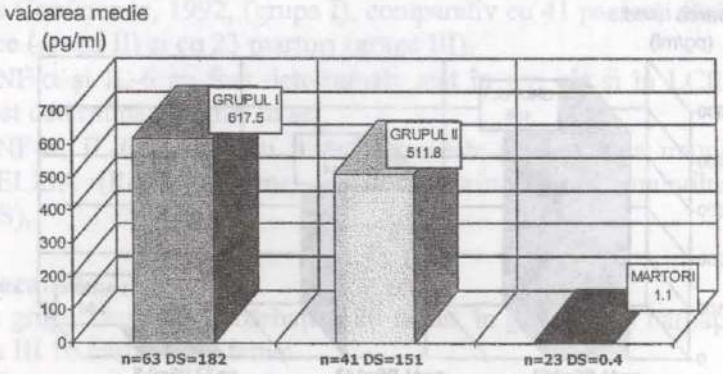
Valoarea medie a IL-6 în ser a fost la grupa I 749±213 pg/ml (p<0,01), la grupa II 633±204 pg/ml (p<0,01) şi la grupa III 1,4±0,7 pg/ml (cut off point>500 pg/ml); între grupa I şi grupa II p>0,05 (Fig. 3).



p<0.01 p<0.01
grupul I vs. grupul II p>0.05

Fig. 3. Valoarea medie a IL-6 în ser la grupul I, la grupul II şi la martori

Valoarea medie a IL-6 în LCR a fost la grupa I 617,5±182 pg/ml ($p<0,01$), la grupa II 511,8±151 pg/ml ($p<0,01$), iar la grupa III 1,1±0,4 pg/ml; între grupa I și grupa II $p>0,05$ (Fig. 4)



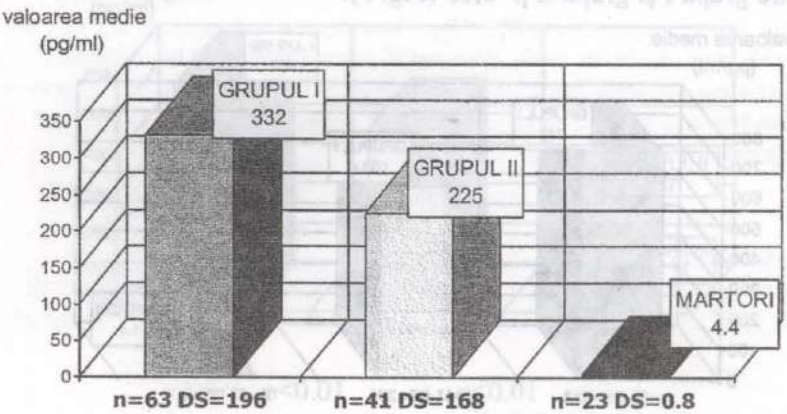
$p<0.01$ $p<0.01$

grupul I vs. grupul II $p>0.05$

Fig. 4. Valoarea medie a IL-6 în LCR la grupul I, la grupul II și la martori

Valorile medii ale IL-6 în ser și în LCR au prezentat un coeficient de corelație crescut ($r=0,73$) la grupa I.

Valoarea medie a IL-8 în ser a fost la grupa I 332±196 pg/ml ($p<0,01$), la grupa II 225±168 pg/ml ($p<0,01$) și la grupa III 4,4±0,8 pg/ml (cut off point>10 pg/ml); între grupa I și II $p>0,05$ (Fig.5).



$p<0.01$ $p<0.01$

grupul I vs. grupul II $p>0.05$

Fig. 5. Valoarea medie a IL-8 în ser la grupul I, la grupul II și la martori

Valoarea medie a PCT în ser a fost la grupa I 80±16 ng/ml ($p<0,01$) la grupa II 30±8 ng/ml ($p<0,01$), iar la grupa III 0,5±0,1 ng/ml (cut off point>1,6 ng/ml); între grupa I şi grupa II ($p>0,05$) (Fig. 6).

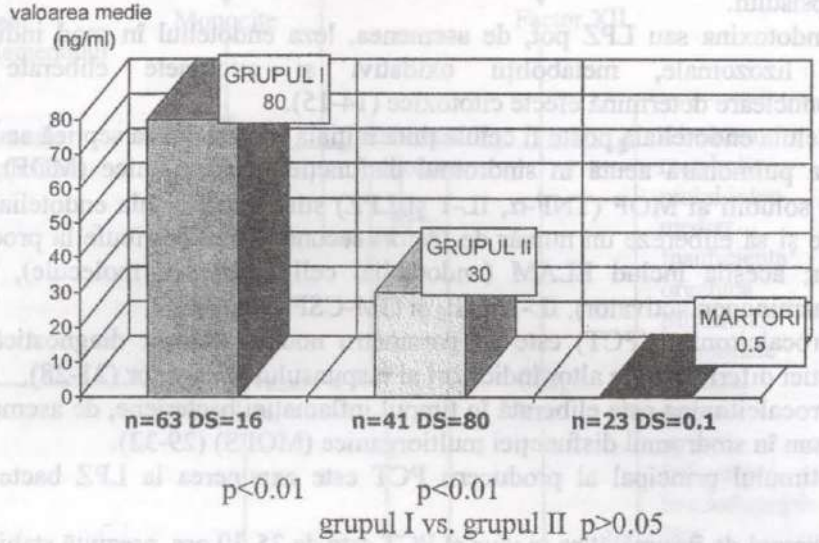


Fig. 6. Valoarea medie a PCT în ser la grupul I, la grupul II şi la martori

Discuţii

Conform definiţiei Criteriilor ACCP/SCCM din 1992, sepsisul este o complicaţie a infecţiei bacteriene caracterizat prin sindromul răspunsului inflamator sistemic (SIRS), iniţial neexistând vreo dovadă a disfuncţiei de organ sau hipotensiune arterială (şoc). Modificările caracterizate prin disfuncţia de organ sau simptome de şoc apar numai în cazurile de sepsis sever sau şoc septic (1-3).

Sepsisul cu germeni Gram negativi este o cauză frecventă a şocului septic la adulţi. În cursul acestuia, organismul gazdei eliberează citokine (TNF-α, IL-1, IL-6, IL-8, etc.) din mononuclearele stimulate de lipopolizaharidele (LPZ) sau toxinele din microorganismele lezate, citokine, peptide biologice, fiind mediatori ai şocului septic (4,5).

Deşi monocitul/macrofagul este principala sursă a citokinelor, se ştie că acestea sunt produse, de asemenea, de o varietate de alte celule epidermice, fibroblaşti sinoviali, limfocite, celule endoteliale vasculare şi de astrocite şi microglii (6-9). Sinteza citokinelor este stimulată de endotoxina bacililor Gram negativi, complexele imune, C5a, precum şi autoreglarea prin alte citokine (10-12).

Unul dintre evenimentele patologice iniţiale asociate în expunerea la endotoxina este ruperea endoteliului vascular. LPZ bacteriene stimulează celulele endoteliale să producă componenţi vasoactivi puternici, ca prostaciclina (PGI_2), să

producă şi să elibereze citokine (de ex: IL-1 şi GM-CSF-granulocite-monocyte colony stimulating factor) (13).

În plus, celulele endoteliale umane pot genera activitate procoagulantă ca răspuns la LPZ, ceea ce explică depunerea fibrinei la nivelul microcirculaţiei în timpul sepsisului.

Endotoxina sau LPZ pot, de asemenea, leza endoteliul în mod indirect; enzimele lizozomale, metaboliţii oxidativi şi citokinele eliberate de polimorfonucleare determină efecte citotoxice (14-15).

Celula endotelială poate fi celula ţintă iniţială în agresiunea septică acută şi agresiunea pulmonară acută în sindromul disfuncţiei multiorganice (MOF), trei mediatori solubili ai MOF (TNF-α, IL-1 şi LPZ) stimulează celula endotelială să sintetizeze şi să elibereze un număr de factori secundari ce contribuie la procesul inflamator; aceştia includ ELAM (endothelial cell adherence molecule), TPA (tissue plasminogen activator), IL-1, PGI_2 şi GM-CSF (16-20).

Procalcitonina (PCT) este un parametru nou cu valoare diagnostică, cu caracteristici diferite de ale altor indicatori ai răspunsului inflamator (21-28).

Procalcitonina este eliberată în timpul inflamaţiei bacteriene, de asemenea, în sepsis sau în sindromul disfuncţiei multiorganice (MOFS) (29-32).

Stimulul principal al producerii PCT este expunerea la LPZ bacteriene (33).

Timpul de înjumătăţire *in vivo* al PCT este de 25-30 ore, prezintă stabilitate bună în plasma şi în ser (22).

Concentraţia PCT se corelează cu intensitatea reacţiei inflamatorii, valori crescute ale PCT fiind observate la bolnavii cu infecţii bacteriene acute severe şi inflamaţie septică (34)

În inflamaţiile acute valorile PCT cresc la câteva ore dupa creşterea IL-6 şi a TNF-α (35).

Concentraţiile crescute ale PCT şi apariţia rapidă a acesteia după debutul inflamaţiei acute sugerează că PCT ar putea avea o funcţie fiziopatologică în răspunsul imun (36).

PCT inhibă prostaglandina (PGE_2) indusă de acidul arahidonic şi producerea tromboxanului B_2 (TxB_2). Aceste observaţii sugerează că PCT poate modula *in vivo* metabolismul icosanoid prin inhibarea activităţii ciclooxigenazei.

Valorile crescute ale PCT sunt un indicator al activării severe a sistemului imun şi al unei reacţii septice sistemice a organismului, reducerea acestora relevă ameliorarea tabloului clinic şi eficacitatea terapeutică (32,37).

În schema de mai jos sunt redate principalele mecanisme ale complicaţiilor neurologice în sepsis (Fig. 7) (38).

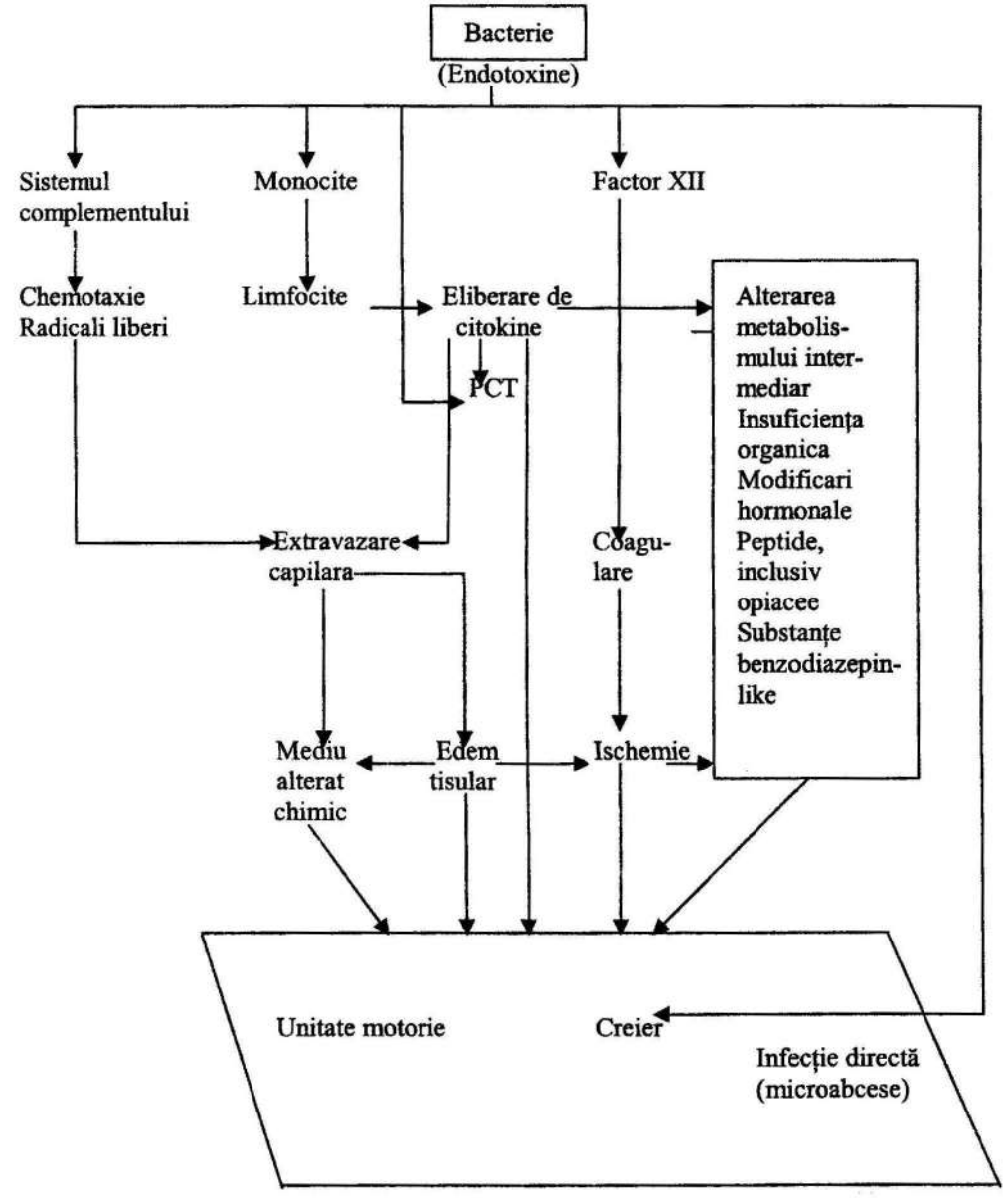


Fig. 7. Principalele mecanisme ale complicaţiilor neurologice în sepsis

Concluzii

1) Parametrii investigaţi sunt utili pentru evaluarea sepsisului, dar nu permit identificarea cazurilor cu complicaţii neurologice.

2) Coeficientul de corelaţie al citokinelor din ser cu cel din LCR fiind

crescut la pacienții din grupa I, sugerează afectarea barierei hematoencefalice, cu consecințele sale patologice.

3) Creșterea PCT în ser, indusă de TNF-α și IL-6, este un argument asupra gravității sepsisului și a complicațiilor neurologice.

Bibliografie

1. ALBRIGHTSON C.R., BAENZIGER N.I., NEEDLMAN P. Exagerated human-vascular cell prostaglandin biosynthesis mediated by monocytes. Role of monokines and interleukin-1. J. Immunol. 1985; 135: 1872-7.
2. ALLEGA A., CORICA F., GIACOBBE M.S. Possibilita d'impiego delle citochine nella terapia antinfettive. Giornale di Malattive Infettive e Parassitarie. 1993; 45: 356-62.
3. American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine Consensus Conference; definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. Crit. Care Med. 1992; 20: 864-74.
4. ASSICOT M., GENCHEL D., CARSIN H. et al., High serum of procalcitonin concentrations in patients with sepsis and infection. Lancet 1993; 341: 515-8.
5. BAGBY G.C., DINARELLO C.A., WALLACE P. Interleukin 1 stimulates granulocyte macrophage colony-stimulating activity release by vascular endothelial cells. J. Clin. Invest. 1986; 78: 1316-23.
6. BOLTON C.F., YOUNG G.B., ZOCHDNE D.W. et al., The neurological complications of sepsis. Ann. Neurol. 1993; 33: 94-100.
7. BOUCHER B.A. Procalcitonin: Clinical tool or laboratory curiosity ? Crit. Care Med. 2000; 28(4): 1224-5.
8. BRAITHWAITE S.S. Procalcitonin. Marker or Mediator. Crit. Care Med. 1998; 26(6): 977-8.
9. BRUNKHORST F. M., WEGSCHEIDER K., FORYCKI Z. F. et al., Procalcitonin for early diagnosis and differentiation of SIRS, sepsis, severe sepsis, and septic shock. Intensive Care Med. 2000; 26(Suppl 2): S 148-52.
10. CARSIN H., ASSICOT M., FEGER F. et al., Evolution and significance of circulating procalcitonin levels compared with IL-6, TNF-α and endotoxin levels early after thermal injury. Burns 1997; 23(3): 218-24.
11. CHEVAL C., TIMSIT J.F., GARROUSTE-ORGEAS M. et al., Procalcitonin (PCT) is useful in predicting the bacterial origin of an acute circulatory failure in critically ill patients. Intensive Care Med. 2000; 26(Suppl 2): S 153-8.
12. COHEN J., GUYATT G., BERNARD G.R. et al., New strategies for clinical trials in patients with sepsis and septic shock. Crit. Care Med. 2001; 29(4): 880-6.
13. COJOCARU I.M., Procalcitonina. Un nou marker al infecțiilor severe. Rev. Laborator Clinic-Tehnică Medicală 2001; 7(2): 16-7
14. FISHER C.J.JR., AGOSTI J.M., OPAL S.M. et al., Treatment of septic shock with the tumor necrosis factor receptor Fc fusion protein. N. Engl. J. Med. 1996; 334: 1697-1702.
15. GALETTO LACOUR A., GERVAIX A., ZAMORA S.A. et al., Procalcitonin, IL-6, IL-8, IL-1 receptor antagonist and C-reactive protein as identificators of serious bacterial infections with fever without localising signs. Eur. J. Pediatr. 2001; 160: 95-100.
16. HARBARTH S., HOLECKOVA K., FROIDEVAUX C. et al., Diagnostic value of procalcitonin, interleukin-6 and interleukin-8 in critically ill patients admitted with suspected sepsis. Am. J. respir. Crit. Care Med. 2001; 164: 396-402.
17. KARZAI W., MEIER-HELLMANN A., REINHART K. Procalcitonin-An indicator of sepsis. In: Iearbook of Intensive Care and Emergency Medicine. 1998; Ed J. L. Vincent, Springer Verlag 1998; 247.
18. KARZAI W., OBERHOFFER M., MEIER-HELLMANN A. et al., Procalcitonin-A new

indicator of Systemic Response to Severe Infections. Infection 1997; 25(6): 329-34.
19. KARZAI W., REINHART K., Sepsis: definitions and diagnosis. Int. J. Clin. Pract Suppl. 1998; 95: 448-9.
20. MASTROIANNI C.M., PAOLETTI F., VALENTI C., Produzione intratecale di TNF-α nella patologia neurologica infettiva. Giornale di Malattie Infective e Parassitarie 1993; 45: 1129-1130.
21. MEISNER M. Procalcitonin (PCT), A new, innovative infection parameter. Biochemical and clinical aspects. Thieme Stuttgart, New York 2000.
22. MICHIE H.R., MANOGUE K.R., Spriggs D.R. et al., Detection of circulating tumor necrosis factor after endotoxin administration. N. Engl. J. Med. 1988; 318: 1481-6.
23. MULLER B., BECKER K., SCHACHINGER H. et al., Calcitonin precursors are reliable markers of sepsis in a medical intensive care unit. Crit. Care Med. 2000; 28(4): 977-83.
24. NYTEN M., OLINGA P., HAUW THE I. et al., Procalcitonin behaves as a fast responding acute phase protein *in vivo* and *in vitro*. Crit. Care Med. 2000; 28(2): 458-461.
25. OBERHOFFER M., KARZAI W., MEIER-HELLMANN A. et al., Procalcitonin. Ein neuer diagnostischer Parameter bei schweren Infektionen und Sepsis. Anaestesist 1998; 47: 581-7.
26. OBERHOFFER M., RUBWURM S., BREDLE D. et al., Discriminative power of inflammatory markers for prediction of tumor necrosis factor and interleukin-6 in ICU patients with systemic inflammatory response syndrome (SIRS) or sepsis at arbitrary time points. Intensive Care Med. 2000; 26(Suppl 2): S 170-4.
27. OBERHOFFER M., VOGELSANG H., RUBWURN S. et al., Outcome prediction by traditional and new markers of inflammation in patients with sepsis. Clin. Chem. Lab. 1999; 37(3): 363-368.
28. PRYIN J., WIDMER M.C., KOSSODO S., et al. Human neutrophils secrete gelatinase B *in vitro* and *in vivo* in response to endotoxin and proinflammatory mediators. Am. J. Respir Cell Mol. Biol. 1999; 20: 458-64.
29. ROTHENBURGER M., MARKEWITZ A., LENZ T. et al., Detection of acute phase response and infection. The role of procalcitonin and C-reactive protein. Clin. Chem. Lab. Med. 1999; 37(3): 275-9.
30. SUPRIN E., CAMUS C., GACOUIN A. et al., Procalcitonin: a valuable indicator of infection in a medical ICU ? Intensive Care Med. 2000; 26(9): 1232-8.
31. UGARTE H., SILVA E., MERCAN D. Procalcitonin used as a marker of infection in the intensive care unit. Crit. Care Med. 1999; 27(2): 498-504.
32. VAN LANGEVELDE P., JOOP K., VAN LOON J. et al., Endotoxin, cytokines, and proclcitonin in febrile patients admitted to the hospital: Identification of subjects at high risk of mortality. Clin. Infect Dis. 2000; 31: 1343-8
33. VINCENT J.L., Procalcitonin: yhe marker of sepsis ? Crit. Care Med. 2000; 28(4): 1226-7.
34. WAAGE A., BRADTZAEG P., HALSTENSEN A. et al., The complex pattern of cytokines in serum from patients with meningococcal septic shock. Association between interleukin-6, interleukin-1, and fetal outcome. J. Exp. Med. 1989; 169: 333.
35. WANNER G.A., KEEL M., Steckholzer U. et al., Relationship between procalcitonin plasma levels and severity of injury, sepsis, organ failure, and mortality in injured patients. Crit. Care Med. 2000; 28(4): 950-7.
36. WHANG K.T., Vath S.D., Nylen E.S. et al., Procalcitonin and proinflammatory cytokine interactions in sepsis. Shock 1999; 12(4): 268-73.
37. XIAO B-G., BAI X-F., ZHANG G-X. et al. Shift from anti-to proinflammatory cytokine profiles in microglia through LPS-or IFN-γ mediated pathways. Neuropat. 1996; 7: 1893-8.
38. ZABOREC R., Definition for septic syndrome should be re-evaluated. Int. Care. Med. 2001; 26: 1870.

SCHEME TERAPEUTICE FOLOSITE ÎN TRATAMENTUL MENINGITEI NOZOCOMIALE – CONSIDERAȚII PE 114 CAZURI

Doina Mihalache, V.Luca, Carmen Corcaci, Tatiana Turcu
Universitatea de Medicină şi Farmacie "Gr.T.Popa", Iaşi
Clinica de Boli Infecţioase

Abstract

Aim of the study: To relieve the efficacy of the different antimicrobian molecules in the etiotrop treatment of nosocomial meningitis.

Material and methods: We studied retrospectively 114 cases of nosocomial meningitis admitted in our unit between 1990-2001.

Results: Over one half of the patients were admitted in the last five years; the main cause of the appearance was neurosurgical injury. The etiology was known in 37 cases (32.45%); *S.aureus* and coagulaso-negative were found in 22 cases; GNB – 8 cases and anaerobic germs in five cases; 6 strains of *Staphylococcus* were meti-R. For this etiology the most performant therapy was – Ceftriaxone + Rifampin, or Pefloxacin + Vancomycin/Ceftriaxone. Nosocomial meningitis due to coagulaso/negative – Staphylococcus was treated by Ciprofloxacin + Ceftriaxone; GNB – Pefloxacin + Ceftriaxone; anaerobic germs Metronidazole/Chloramphenicol + aminopenicilline or Pefloxacin + Ceftazidim. Therapeutically problems raised the nosocomial meningitis with unknown etiology; 11 patients died, 9 of them with toxic-septic shock and DIC or ménage coma.

Conclusions: Nosocomial meningitis raised serious therapeutically problems.

Creşterea în ultimile două decenii a intervenţiilor neurochirurgicale pentru afecţiuni endocraniene, traumatisme craniocerebrale şi aplicare de shunt, au avut drept consecinţă apariţia meningitei nosocomiale, afecţiune gravă, ce pune probleme deosebite de terapie etiotropă prin tulpinile rezistente la antibiotice implicate în determinismul etiologic al neuroinfecţiei.

În Clinica de Boli Infecţioase Iaşi în perioada 1990-2001 au fost spitalizate 114 cazuri de meningită nosocomială, reprezentând 21% din totalul meningitelor comunitare internate în aceeaşi perioadă de timp.

Internările au variat în limite largi între 2 şi 25 bolnavi pe an, însă în perioada 1997-2001 s-au înregistrat mai mult de jumătate de cazuri (57,01%) (tabel 1). Creşterea frecvenţei acestui tip de meningită bacteriană acută se datoreşte unor factori predispozanţi întâlniţi la aceşti bolnavi (tabel 2).

Tabel nr I. Repartiția cazurilor pe ani

	90	91	92	93	94	95	96	97	98	99	2000	2001
Nr. Cazuri	7	5	11	12	7	4	3	14	25	14	10	2

Tabel II. Meningita nosocomială – factori predispozanți

Factori predispozanți	Nr. cazuri	%
Afecțiuni neuro-chirurgicale (tumori, chisturi, etc.)	72	63,15
Explorări neurochirurgicale (PEG)	4	3,50
Rahianestezie	4	3,50
Otomastoidită cronică operată	5	4,38
Polip nasal malignizat invadant	1	
Proceduri neuroinvazive (laminectomii, implant shunt)	28	24,56

Depistarea meningitei a fost în relație directă cu experiența neurochirurgului, deoarece simptomele clinice sunt adesea mai puțin zgomotoase comparativ cu meningitele purulente spontane. Ele s-au tradus prin persistența sau reluarea febrei (85%), tulburări psihice (29,8%), convulsii (21,92%) și sindrom meningian de contractura discret, manifestat ca moderată redoare de ceafă, în toate cazurile. Astfel s-a putut preciza debutul afecțiunii în 10 zile de la intervenție la 75 de bolnavi (65,7%) și după acest interval la alți 39 pacienți (34,3%).

Evoluția meningitei bacteriene este în relație directă cu precocitatea diagnosticului suspicionat de modificările citobiochimice ale lichidului cefalorahidian.

Acesta a fost purulent sau opalin în 76 de cazuri (66,6%), hemoragic în 17 cazuri (14,9%) și clar la alți 19 bolnavi (17,4%). Titrul PMN din sedimentul lcr a fost superior la 50% în 89 cazuri (78%), iar proteinorahia determinată la 97 de bolnavi (exceptând cazurile cu lcr hemoragic) a fost constant crescută, însă valori peste 1g/dl s-au întâlnit numai în 40 de cazuri.

Agenții etiologici implicați în etiologia meningitei nosocomiale sunt diferiți de cei cauzatori ai meningitelor comunitare. Precizarea lor s-a realizat prin izolarea agentului patogen prin cultivarea lichidului cefalorahidian 930 cazuri), bacterioscopie directă (2 cazuri) sau ambele metode (5 cazuri). Remarcăm numărul mare de cazuri la care etilogia nu s-a putut preciza din cauza pretratării anterior spitalizării (tabel 3). În ordinea predominanței s-au remarcat stafilococul auriu și coagulazo-negativ (22 cazuri), enterobacteriacee (8 cazuri), *Enterococcus fecalis* și bacterii anaerobe Gram pozitive – câte 2 cazuri și anaerobi Gram pozitivi asociați cu enterobacteriacee (3 cazuri) (tabel 4).

Tabel III. Meningita nosocomială – metode de precizare a etiologiei

Cultivarea LCR		Bacterioscopie directă		Cultivarea LCR + Bacterioscopie		Neprecizat (pretratat)	
Nr. cazuri	%	Nr. cazuri	%	Nr. cazuri	%	Nr. cazuri	%
30	26,31	2	1,75	5	4,38	77	67,56

Tabel IV. Etiologia meningitei nosocomiale

AGENT ETIOLOGIC PRECIZAT	NR CAZURI	%
• Stafilococ auriu si coagulazo-neg	22	19,3%
• Enterococcus fecalis	2	1,75%
• Entrobacteriaceae	8	7%
• Bacterii anaerobe(peptococ/peptostr)	2	1,75%
• Anaerobi+Enterobacteriaceae	3	2,63%

FARA AGENT ETIOLOGIC IZOLAT	
NR. CAZURI	%
77	**67,54%**

Terapia curativă a ţinut seama de rezultatele antibiogramei în cazurile când s-a putut izola agentul determinant sau a fost un tratament de acoperire, când nu a fost posibil acest lucru. Eficienţa terapiei a fost urmărită pe baza criteriilor clinice (scăderea febrei, revenirea conştientului, dispariţia sindromului meningian) şi ale lcr-ului (schimbarea raportului PMN/limfocite în favoarea ultimelor, dispariţia agentului patogen, normalizarea albuminorahiei şi a glicorahiei).

Meningita stafilococică a totalizat 22 de cazuri, iar 6 izolate au fost Meti-R.

Au fost realizate mai multe scheme de tratament, cele mai eficiente fiind asocierile ceftiaxona + rifampicina şi vancomicina + ceftiaxona. S-au înregistrat 4 decese. *Enterococcus fecalis* a determinat 2 cazuri de meningită purulentă, tratate cu ampicilina + vancomicina; evoluţia a fost favorabilă (tabel 5).

Meningita produsă de enterobacteriacee a totalizat 8 cazuri, iar schema terapeutică folosită a fost asocierea pefloxacinei cu ceftazidima. S-au produs 3 decese (tabel 6).

Bacteriile anaerobe Gram pozitive singure sau asociate cu enterobacteriacee au răspuns cel mai bine schemelor terapeutice utilizate (pefloxacin + ceftazidima sau cloramfenicol/ metronidazol + aminopeniciline), neînregistrându-se nici un deces (tabel 7).

Cea mai spinoasă problemă terapeutică au ridicat cazurile de meningită fără agent etiologic izolat, atât prin numărul mare de cazuri, cât şi prin alegerea celei mai eficiente scheme de tratament. Aşa cum se remarcă în tabelul numărul 8 (tabel 8) s-au folosit cinci scheme de tratament, care au căutat să acopere atât spectrul Gram pozitiv, cât şi cel Gram negativ. S-au înregistrat 10 decese; la 6 bolnavi, antibioticul nici nu a avut timpul necesar să actioneze, aceştia decedând în primele 72h de la instituirea terapiei. Considerăm cea mai eficientă schemă

terapeutică asocierea cefalosporina generație III + pefloxacin + vancomicina / imipenem.

Tabel V. Meningita nosocomială determinată de coci gram pozitivi - scheme terapeutice

AGENT ETIOLOGIC	SCHEME TERAPEUTICE	DECESE
Stafilococ auriu și coagulazo-negativ (22c)-6 tulpini meti-R	Cloramfenicol+Rifampicina (3c) Ceftriaxona+Rifampicina (3c) Fluorochinolona+Ceftriaxona (6c) Vancomicina+Ceftriaxona (10c)	2 cazuri (36h, 72 h) 2 cazuri (10 zile, 14 zile)
Enterococcus faecalis (2c)	Ampicilina + Vancomicina (2c)	0 cazuri

Tabel VI. Meningita nosocomială determinată de BGN

AGENT ETIOLOGIC	SCHEME TERAPEUTICE	DECESE
Enterobacteriaceae – 8 cazuri	Pefloxacina + Ceftazidima	3 cazuri (36 h, 48 h, 72 h)

Tabel VII. Meningita nosocomială determinată de bacterii anaerobe sau asocieri de bacterii

AGENT ETIOLOGIC	SCHEME TERAPEUTICE	DECESE
Bacterii anaerobe Gram pozitive (2c)	Cloramfenicol/ Metronidazol + Aminopeniciline	0 cazuri
Bacterii anaerobe Gram pozitive + Enterobacteriaceae (3c)	Pefloxacin + Ceftazidima	0 cazuri

Tabel VIII. Meningita nosocomială fără agent etiologic izolat-scheme terapeutice

TERAPIE	DECESE
Pefloxacin+Vancomicina+Ceftazidima (44c)	2 cazuri (72 h, 5 z)
Ampicilina-sulbactam+Vancomicina+Ceftazidima (12c)	3 cazuri (12 h, 36 h, 72 h)
Aztreonam (6c)	2 cazuri (5 z, 8 z)
Pefloxacina+Imipenem+Ceftaxidima (8c)	0 cazuri
Pefloxacina+Amoxicilina-acid clvulcanic (7c)	3 cazuri (72 h, 72 h, 5 z)

Din cele 114 cazuri de meningita nosocomială au decedat 17 (14,91%), dintre care 11 în primele 72 ore de terapie, cauza fiind șocul infecțios (4 cazuri) și coma meningitică (7 cazuri).

Discuții

Infecția nosocomială a SNC apare la bolnavi după intervenții neurochirurgicale pentru traumatisme craniocerebrale sau pentru diferite afecțiuni endocraniene (Korine K-1988, Mamurian-1995, Gassen A-2001).

La pacienţii nechirurgicali meningita nosocomială este foarte rară; Salard şi colaboratorii arată în 1992 că prevalenţa meningitei nosocomiale, în general, se situează la valoarea de 1%, iar în secţiile de terapie intensivă neurologică procentajul urcă la 23.Ostobal în 1996, efectuând un studiu pe 1950 bolnavi internaţi într-un interval de 5 ani în secţia de neurologie a Spitalului Universitar Zaragosa, constată apariţia meningitei nosocomiale bacteriene în 64 de cazuri (3,28%). Jorda şi colaboratorii în 1992, într-un studiu multicentric al infecţiilor SNC, analizând 169 cazuri de meningită, remarcă un procent de 9,5% de origine nosocomială.

Pe cazuistica noastră, meningita nosocomială a reprezentat aproape ¼ din totalul meningitelor bacteriene internate în Clinica de Boli Infecţioase Iaşi în perioada 1990-2002.

Dacă în studiul nostru în apariţia meningitei nosocomiale factorii de risc predominanţi au fost intervenţiile neurochirurgicale pentru afecţiuni endocraniene şi cerebrale (63,15%), pentru alţii (Ostobal, 1996), aplicarea de cateter intraventricular a fost cauza principală (14,8%). În literatura medicală procentajul apariţiei meningitei nosocomiale după aplicarea de shunt variază între 10 şi 22, în funcţie de mai mulţi factori: tipul de cateter utilizat, locul apariţiei acestuia, durata menţinerii lui.

Pe materialul nostru agenţii infecţioşi cauzatori ai meningitei nosocomiale au fost: stafilococul, BGN şi bacteriile anaerobe Gram pozitive. Constatare apropiată celei lui Filka şi colaboratorii în 2001 şi Ostobal şi colaboratorii în 1996.

Tratamentul curativ s-a efectuat în funcţie de antibiograma agentului etilogic izolat sau de acoperire în absenţa identificării acestuia. Pentru stafilococ asocierea ceftriaxona/vancomicina+rifampicina/pefloxacina a constituit schema terapeutică cea mai eficientă. Meningita nosocomială produsă de bacilii Gram negativi a răspuns favorabil la asocierea pefloxacinei cu ceftriaxona, iar cea determinată de bacterii anaerobe Gram pozitive, la metronidazol/cloramfenicol+ aminopeniciline.

S-a înregistrat o mortalitate de 14,91%, cifra mult inferioară celei raportate de Cabezas şi colaboratorii în 1970 şi Ostobal şi colaboratorii în 1996.

De Bels şi colaboratorii în 2002 recomandă ca pe lângă măsurile de igienă şi asepsie în neurochirurgie să se utilizeze antibioprofilaxie în următoarele scheme terapeutice: cefotaxim, cefotaxim+pefloxacin sau vancomicina. Asocierea cefotaxim + vancomicina pare să fie cea mai eficientă în cazurile de aplicare de shunt.

Concluzii

- Incidenţa meningitei nosocomiale este în continuă creştere, cu cele mai multe cazuri în ultimii 5 ani ai perioadei studiate (57%).
- Etiologia meningitei nosocomiale s-a stabilit numai în 37 cazuri,

datorită terapiei anterior administrată în alte servicii.

- Etiologia a fost dominată de *Staphilococcus aureus* şi *epidermidis*, BGN şi bacterii anaerobe Gram pozitive singure sau asociate.
- Considerăm eficiente următoarele scheme terapeutice: Ceftriaxona/Vancomicina+Rifampicina/Pefloxacina pentru stafilococul auriu sau epidermidis.
- Pefloxacina+Ceftriaxona pentru BGN şi Metronidazol/Cloramfenicol+Aminopeniciline pentru anaerobi.
- Letalitatea a fost de 14,91%.

Bibliografie

1. DE BELS, A M KORINEK, R BISMUTH, D TRYSTRAM, P CORIAT, L PUYBASSET- Nosocomial meningitis, Acta neurochirurgia, 2002, 144, 989-995
2. FILKA Y, HUTOVA M, TUBARSKY J, SAGAT T,KRALINSKY K, KREMERY V- Nosocomial meningitis, Acta pediatrica, 200, 88, 5, 576-578
3. JORDA R, SERRA J, NAVA J et al, SEMIUC Group of CNSY Research-Multi-centre study of central nervous system infections requiring admission in intensive care units-Intensive Care Med, 1992, 18, S90
4. KORINEK AM-Infection post-neurochirurgicales, In:Regnier B, Brein-Buisson Ch(eds), L' infection en reanimation Paris Mason, 1988, 151-158
5. MAMOURIAN AC, DICKMAN CA, DRAYER BP: Spinal epidural abscess: three cases following spinal epidural infection demonstrated with magnetic resonance imaging, Anesthiology, 1993, 78, 204-207
6. MI OSTOBAL, MA SUAREZ-PINTILLA, C. SAUZ-SEBASTIAN, A MILLASTRE- Estudio epidemiologico de la meningites nosocomial en el enferno neurologico, Rev. Neurol(Bare), 1996, 24 (127): 265-267
7. SALORD F, GRANDO J, VERGES M, - Nosocomial infection in a neurological and neurosurgical intensive care unit one year prospective study. Intensive Care Med, 1992;19;S140
8. YASSEN ARABI MA-Nosocomial meningoencephalites Med Pat Jour of Emergency and Intesive Care Med, 2001, 5, 2, 201-207

INFECȚIILE GRAVE LA COPII IMUNOCOMPROMIȘI

Ingrith Miron*, Cătălina Ionescu*, Gabriela Coman**,
I. Tansanu*, O. Brumariu*
* *Clinica a IV-a Pediatrie, Iași, Secția de Hemato-Oncologie Pediatrică*
** *Laboratorul de microbiologie Sp. "Sf. Maria", Iași*

Abstract
Drug resistance of certain bacteria represents a serious problem when treating an immunocompromised host. Our retrospective study in the Hematological and Oncological Pediatric Department looked at 10 patients with sepsis, admitted between 2001-2002 as concerned their immunologic status, bacteria identification, choice of antibiotherapy and response to treatment. The analysis showed that under the level of 500 neutrophils/mm^3 the probability that an sistemic infection should appear is very high. The standard antibiotherapy used in nondocumented neutropenic infection was of broad range as 3rd generation cephalosporin + aminoglicozid. In documented infection, therapy was performed as required. The course for 30% of patients was extremely sever and a prediction of neutropenia grade is necessary after a chemotherapy phase in order to forsee the risk of bad prognosis.

Etiologia acestor infecții a putut fi documentată doar în 6 cazuri (vezi Tabel 1), cel mai frecvent implicat fiind stafilococul (4 cazuri), urmat de pneumococ , *E. coli* și *Salmonella* grup B .

Tabel 1. Agenții etiologici implicați

Agent etiologic	Nr. cazuri
Stafilococ	4
Pneumococ	1
E.Coli + Salmonella grup B	1
Nedocumentata	4

În 4 cazuri s-au asociat și infecții fungice (mucită) diagnosticate clinic, fără confirmare microbiologică; 1 caz cu abces splenic a asociat infecție cu stafilococ și anaerobi.

În cazurile nedocumentate, pacienții prezentau semne clinice evidente de

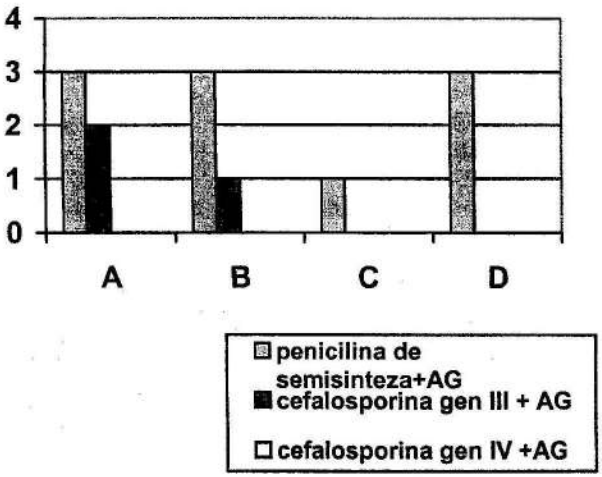
sepsis în asociere cu neutropenie severă (sub 500 / mm^3), aspecte care au impus terapia antimicrobiană, conform protocoalelor internaţionale.

Punctul de plecare:

- Leziune cutanată – 3 cazuri de celulită facială, fără identificarea etiologiei, 2 cazuri cu punct de plecare cateterul venos central (stafilococ coagulazo-negativ);
- Leziune mucoasă – 2 cazuri de vulvo-vaginită cu Stafilococ alb coagulazo-negativ, 4 cazuri de mucită;
- Digestiv şi renal - 1 (coprocultură pozitivă pentru Salmonella grup B, urocultura pozitivă pentru *E. coli*);
- Pulmonar – 1 caz cu pneumococ în hemocultură;
- Nedeterminabil - 2.

În condiţiile unui teren imun compromis tratamentul chimioterapic aplicat de prima intenţie a constat în asociere de penicilină de semisinteză şi aminoglicozid (3 cazuri), cefalosporină de generaţia III şi aminoglicozid (3 cazuri), cefalosporina de generaţia IV şi aminoglicozid (1 caz) , Vancomicina (3 cazuri).

În evoluţie



Aprecierea răspunsului clinic s-a realizat la 72 h de la începerea terapiei, constatându-se absenţa răspunsului la 2 din cei 3 pacienţi ce au primit penicilină de semisinteză şi aminoglicozid, precum şi la 1 caz din categoria B. În aceste situaţii s-a instituit terapie de a II a intentie: Vancomicina sau Cefalosporine de generaţia IV.

Pe lângă tratamentul chimioterapic pacienţii au primit şi terapie asociată, impusă de condiţiile subjacente şi anume: antifungice (4 cazuri), gama globuline (6 cazuri), factori de creştere a coloniilor granulocitare (toţi pacienţii), terapie de substituţie utilizând concentrat leucocitar şi intervenţie chirurgicală în 3 cazuri.

În evoluție, infecția a fost stăpânită, dar cu sechele în 3 cazuri, la 3 pacienți (2 cu infecție nedocumentată și 1 caz cu infecție stafilococică) s-a înregistrat soc septic cu exitus, iar la celelalte 4 cazuri evoluția a fost semnată de boala de bază.

Concluzie

Pacienții cu malignități pot fi sever compromiși prin imunodeficiența dată de boală, citostatice sau ambele. Tipul, intensitatea și durata terapiei citostatice sunt importante in aprecierea răspunsului la terapia antibacteriană.

Bibliografie

1. ANAISSIE E, VARTIVARIAN S, BODEY GP, et al. Randomized comparison between antibiotics alone and antibiotics plus granulocyte-macrophage colony-simulating factor (*Escherichia coli*-derived) in cancer patients with fever and neutropenia. Am J Med. 1996; 100: 17-23.
2. BIESMA B, DE VRIES EG, WILLEMSE PH, et al. Efficacy and tolerability of recombinant human granulocyte-macrophage colony-stimulating factor in patients with chemotherapy-related leukopenia and fever. Eur J Cancer. 1990; 26: 932-936.
3. CRAWFORD J, OZER H, STOLLER R, et al. Reduction by granulocyte colony-stimulating factor of fever and neutropenia induced by chemotherapy in patients with small-cell lung cancer. N Engl J Med. 1991; 325: 164-170.
4. DIGNANI MC, ANAISSIE EJ, HESTER JP, et al. Treatment of neutropenia-related fungal infections with granulocyte colony-stimulating factor- elicited white blood cell transfusions: a pilot study. Leukemia. 1997; 11: 1621-1630.
5. FOSSA SD, KAYE SB, MEAD GM, et al. Filgrastim during combination chemotherapy of patients with poor-prognosis metastatic germ cell malignancy. European Organization for Research and Treatment of Cancer, Genito-Urinary Group, and the Medical Research Council Testicular Cancer Working Party, Cambridge, United Kingdom. J Clin Oncol. 1998; 16: 716-724.
6. GORDON LI, YOUNG M, WELLER E, et al. A phase II trial of 200% ProMACE-CytaBOM in patients with previously untreated aggressive lymphomas: analysis of response, toxicity, and dose intensity. Blood. 1999; 94: 3307-3314.
7. HARTMANN LC, TSCHETTER LK, HABERMANN TM, et al. Granulocyte colony-stimulating factor in severe chemotherapy-induced afebrile neutropenia. N Engl J Med. 1997; 336: 1776-1780.
8. JARQUE I, SAAVEDRA S, MARTIN G, et al. Delay of onset of candidemia and emergence of *Candida* krusei fungemia in hematologic patients receiving prophylactic fluconazole. Haematologica. 2000; 85: 441-443.
9. LAPORTE JP, FOUILLARD L, DOUAY L, et al. GM-CSF instead of autologous bone-marrow transplantation after the BEAM regimen. Lancet. 1991; 338: 601-602.
10. MAHER DW, LIESCHKI GJ, GREEN M, et al. Filgrastim in patients with chemotherapy induced febrile neutropenia: a double-blind, placebo-controlled trial. Ann Intern Med. 1994; 121: 492-501.
11. MAYORDOMO JI, RIVERA F, DIAZ-PUENTE MT, et al. Improving treatment of chemotherapy-induced neutropenic fever by administration of colony-stimulating factors. J Natl Cancer Inst. 1995; 87: 803-808.

12. MITCHELL PL, MORLAND B, STEVENS MC, et al. Granulocyte colony-stimulating factor in established febrile neutropenia: a randomized study of pediatric patients. J Clin Oncol. 1997; 15: 1163-1170.
13. RAVAUD A, CHEVREAU C, CANY L, et al. Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor in patients with neutropenic fever is potent after low-risk but not after high-risk neutropenic chemotherapy regimens: results of a randomized phase III trial. J Clin Oncol. 1998; 16: 2930-2936.
14. RIIKONEN P, SAARINEN UM, MAKIPERNAA A, et al. Recombinant human granulocyte-macrophage colony-stimulating factor in the treatment of febrile neutropenia: a double-blind placebo-controlled study in children. Pediatr Infect Dis J. 1994; 13: 197-202.
15. SANTORO A, BALZAROTTI M, TONDINI C, et al. Dose-escalation of CHOP in non-Hodgkin's lymphoma. Ann Oncol. 1999; 10: 519-525.
16. SHIPP MA, NEUBERG D, JANICEK M, et al. High-dose CHOP as initial therapy for patients with poor-prognosis aggressive non-Hodgkin's lymphoma: a dose-finding pilot study. J Clin Oncol. 1995; 3: 2916-2923.
17. STEVENS DA, LEE JY. Analysis of compassionate use itraconazole therapy for invasive aspergillosis by the NIAID Mycoses Study Group criteria. Arch Intern Med. 1997; 157: 1857-1862.
18. TALBOT SM, WESTERMAN DA, GRIGG AP, et al. Phase I and subsequent phase II study of filgrastim (r-met-HuG-CSF) and dose intensified cyclophosphamide plus epirubicin in patients with non-Hodgkin's lymphoma and advanced solid tumors. Ann Oncol. 1999; 10: 907-914.
19. TANOSAKI R, OKAMOTO S, AKATSUKA N, et al. Dose escalation of biweekly cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, and prednisolone using recombinant human granulocyte colony stimulating factor in non-Hodgkin's lymphoma. Cancer. 1994; 74: 1939-1944.
20. VELLENGA E, UYL-DE GROOT CA, DE WIT R, et al. Randomized placebo-controlled trial of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor in patients with chemotherapy-related febrile neutropenia. J Clin Oncol. 1996; 14: 619-627.
21. WINGARD JR, MERZ WG, RINALDI MG, et al. Association of Torulopsis glabrata infections with fluconazole prophylaxis in neutropenic bone marrow transplant patients. Antimicrob Agents Chemother. 1993; 37: 1847-1849.

V. REACȚII ADVERSE LA CHIMIOTERAPIA ANTIBACTERIANĂ

STUDIU ALERGOLOGIC PRIVIND TOLERANȚA LA FLUOROCHINOLONE A PACIENȚILOR CU REACȚII ADVERSE LA ANTIBIOTICE BETA-LACTAMICE

F.-D. Popescu, M. Vieru
Catedra de Alergologie, UMF "Carol Davila", Bucureşti, Romania

Abstract
Objective: to evaluate the tolerance of two second generation fluoroquinolones, ciprofloxacin and lomefloxacin, in patients with a personal history of adverse drug reactions to beta-lactam antibiotics. *Methods*: from selected fifty patients with positive history of adverse reactions to penicillins or cephalosporins we enrolled thirty seven hospitalized patients, because they needed treatment for infections caused by quinolone-sensitive bacteria, and oral provocation tests with ciprofloxacin, 500 mg, or lomefloxacin, 400 mg, were performed. *Results*: 24.32% of the challenged subjects had positive prick tests to inhalant allergens and / or high total IgE levels. Oral challenges with ciprofloxacin (43.24%) and lomefloxacin (56.76%) were carried out in patients with urinary (75.68%), respiratory (21.62%) tract infections or bacterial diarrhea (2.7%), caused by susceptible microorganisms, and no challenged patients presented immediate or accelerated, cutaneous or systemic, allergic drug reactions. *Conclusion*: Sometimes antibacterial drugs other than macrolides are needed in patients with beta-lactam hypersensitivity, and fluororquinolones may be a well tolerated alternative.

Toate antibioticele au potențial de reacții adverse medicamentoase, iar utilizarea lor trebuie să țină cont de variați factori ai raportului beneficiu / risc. Reacțiile adverse medicamentoase (RAM) pot fi clasificate în reacții adverse previzibile (tip A) şi reacții adverse imprevizibile (tip B) (Pirmohamed şi colab, 2001). RAM de tip A sunt predictibile din punct de vedere al profilului

farmacologic cunoscut al medicamentului, reprezintă 80% din totalul RAM şi au de obicei o bună corelaţie doză-răspuns. Factorii genetici pot fi importanţi. Principalele RAM de tip A ale antibioticelor sunt: toxicitatea/supradozarea (de exemplu nefrotoxicitatea datorată nivelurilor crescute de aminoglicozide) şi efectele secundare legate fie doar de medicament (de exemplu colita pseudomembranoasă prin perturbarea florei intestinale de către clindamicină) sau legate atât de medicament, cât şi de bolile asociate (de exemplu erupţiile maculopapulare induse de ampicilină la pacienţii cu mononucleoză infecţioasă). RAM de tip B nu pot fi prezise, reprezintă 20% din RAM şi apar independent de doză. Depind de factori care ţin de individ şi au mecanisme necunoscute sau parţial cunoscute, genetice. RAM de tip B sunt hipersensibilitatea medicamentoasă, intoleranţa medicamentoasă (de exemplu tulburările digestive induse de eritromicină), idiosincrazia şi interacţiunile medicamentoase (de exemplu, incidenţa crescută a hepatitei la administrarea concomitentă a rifampicinei cu izoniazida).

Hipersensibilitatea la medicamentele antibiotice poate fi clasificată, după noile recomandări ale Academiei Europene de Alergologie şi Imunologie Clinică (Johansson şi colab., 2001), în alergie medicamentoasă şi hipersensibilitate medicamentoasă nonalergică. Alergia medicamentoasă are mecanisme imunologice demonstrate şi se clasifică în alergie medicamentoasă IgE-mediată, imediată, manifestată prin anafilaxie, urticarie, angioedem, şi alergie medicamentoasă non-IgE-mediată, mediată prin IgM, IgG sau complexe imune, manifestată prin vasculite, sindrom de tip boala serului, sau mediată limfocitar, manifestată prin erupţii cutanate maculopapulare sau dermatită de contact. Alergia non-IgE-mediată este întârziată sau tardivă.

Hipersensibilitatea la beta-lactamine este o problemă importantă în practica medicală, asistenţa pacientului cu infecţie şi istoric de reacţii adverse la peniciline şi/sau cefalosporine fiind o provocare majoră pentru clinician. Dificultăţile practice legate de aspectele etice, factorul temporal, disponibilitatea determinanţilor majori pentru testarea cutanată la penicilină, lipsa standardizării derivaţilor minori, costurile determinării IgE specifice şi valoarea orientativă a testelor de transformare limfoblastică la antibiotice determină complexitatea efortului medicului alergolog pentru cea mai bună atitudine medicală la caz, mai ales în condiţiile în care descifrarea istoricului de alergie medicamentoasă este uneori dificilă, datorită relatărilor anamnestice neclare sau inexacte.

La pacienţii cu antecedente personale de reacţii alergice la peniciline, care au infecţii cauzate de bacili aerobi gram-negativ, trebuie evitate cefalosporinele şi poate fi luată în considerare administrarea de aztreonam (un monobactam), aminoglicozid sau fluorochinolonă (Gleckman şi colab., 1997). În ceea ce priveşte aztreonamul, deoarece are catenă laterală identică cu ceftazidima, este prudent să nu se administreze la pacienţii alergici la această cefalosporină de generaţia a treia (Adkinson, 1990). Fluorochinolonele pot fi o alternativă avantajoasă din punct de vedere farmacoterapeutic la pacienţii cu RAM la beta-lactamine şi infecţii bacteriene.

Obiectivul studiului

Scopul studiului a constat în evaluarea toleranței alergologice la ciprofloxacină și lomefloxacină, fluorochinolone din generația a doua, administrate oral la pacienții cu antecedente personale de RAM alergice IgE-mediate sau non-IgE-mediate, la antibiotice beta-lactamice, subiecți care prezentau la momentul evaluării infecții bacteriene cu germeni sensibili la chinolone.

Opțiunea pentru fluorochinolone s-a datorat faptului că sunt antibiotice bactericide cu spectru larg. Ele acționează specific asupra ADN girazei (Just, 1993) și exercită un efect postantibiotic după expunerea la concentrații inhibitorii. Efectul antibacterian continuă și după ce bacteriile au fost expuse la aceste antibiotice, în ciuda concentrațiilor subinhibitorii. Fluorochinolonele de generația a doua pot fi indicate în tratamentul infecțiilor de tract urinar, necomplicate și complicate, al sinuzitei acute, al infecțiilor de tract respirator inferior, al infecțiilor cutanate și ale țesuturilor moi, al celor uretrale, cervicale și al prostatitelor. Ciprofloxacina poate fi utilizată și în tratamentul infecțiilor articulare și osoase, al diareei infecțioase și al febrei tifoide (King și colab., 2000).

Metodologie

Am selectat inițial 50 de pacienți, 12 bărbați și 38 femei, cu vârste cuprinse între 24 și 78 de ani, examinați în Clinica de Alergologie a Spitalului Clinic "Nicolae Malaxa", București, într-o perioadă de 18 luni (2001-2002). Toți subiecții prezentau în antecedentele personale patologice RAM imediate sau tardive la peniciline și / sau cefalosporine, cu diferite grade de severitate, de la urticarie și erupții maculopapulare, până la anafilaxie și necroliză epidermică toxică.

Ulterior am selectat 37 de pacienții dintre aceștia, criteriul de includere în lot fiind necesitatea tratamentului antibacterian pentru infecții cauzate de germeni sensibili la fluorochinolone (sensibilitate dovedită prin antibiogramă) și consimțamântul informat al pacientului pentru testul de provocare orală medicamentoasă în condiții de spitalizare.

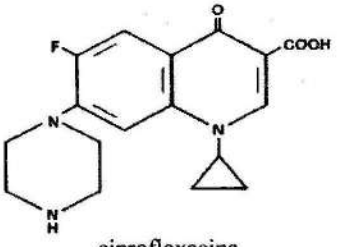
Criteriile de neincludere au fost antecedentele de RAM la chinolone, epilepsia sau antecedentele personale convulsive, afecțiunile hepatice și renale severe, sarcina, alăptarea, vârsta sub 18 ani, tratamentul concomitent cu antiinflamatoare nesteroidiene sau beta-blocante.

Pacienții selecționați, spitalizați au fost reevaluați pentru patologia asociată alergologică, respiratorie și în special cardiovasculară, care ar crește riscul reacțiilor adverse la utilizarea trusei de urgență.

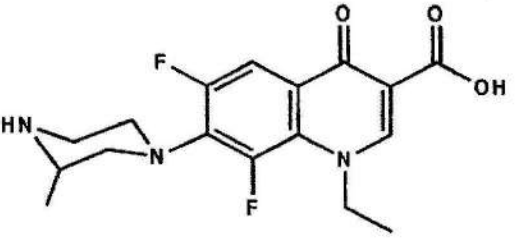
S-au efectuat în prealabil analize uzuale de hematologie și biochimie (hemoleucogramă, VSH, glicemie, ALT, AST), examen sumar de urină, ECG (inclusiv cu calcul QTc) și probe funcționale ventilatorii cu flow-screen *Jagger*, teste cutanate alergologice *prick* la aeroalergeni din trusa *Halcis* sau determinare imunocromatografică a IgE totale. În funcție de caz, s-au efectuat seriat uroculturi, coproculturi, culturi din spută, cu antibiogramă, și, în situații selecționate, serologia

pentru virusurile hepatitice B şi C (Ag HBs şi Ac anti-HCV), crioglobulinele serice şi factorul reumatoid.

Pacienţii incluşi în lot au fost supuşi în mediul intraspitalicesc testelor de provocare orală cu fluorochinolone de generaţia a doua (Figura 1), fie ciprofloxacină (Cuminol, comprimat cu 500 mg), fie lomefloxacină (Lomaday, comprimat cu 400 mg), în funcţie de antibiogramă, şi monitorizaţi iniţial timp de două ore sub perfuzie i.v. cu ser fiziologic sau glucoză 5% soluţie perfuzabilă, cu trusă de urgenţă la îndemână. Protocolul de provocare nu a fost dublu-orb, placebo-controlat din motive etice. Trusa de urgenţă a cuprins ca substanţe medicamentoase: adrenalina, fiole cu soluţie apoasă cu 1 mg/ml; salbutamolul sulfat, flacon presurizat cu 100 mcg/doză de aerosol; efedrina, comprimate cu 50 mg; prometazina, fiole cu 25 mg/ml, şi hidrocortizon succinat sodic, flacoane cu echivalentul a 100 mg hidrocortizon. Monitorizarea clinică intraspitalicească ulterioară a reacţiilor adverse fost de minim 72 de ore.



ciprofloxacina



lomefloxacina

Fig. 1. Fluorochinolonele utilizate pentru provocările orale

Alegerea ciprofloxacinei şi lomefloxacinei pentru testele de provocare orală nu a fost aleatorie. Ambele sunt chinolone de generaţia a doua, alături de enoxacină, norfloxacină şi ofloxacină, şi sunt disponibile pentru administrare orală. Au o activitate crescută pe germeni gram-negativ, ca şi pe cei gram-pozitiv şi atipici. Opţiunea pentru preparatele farmaceutice utilizate a luat în calcul şi aspectele farmacoeconomice, legate de costurile directe ale medicaţiei pe zi de tratament antiinfecţios.

Durata tratamentului indicat ulterior după monitorizarea de 72 de ore a variat în funcţie de tipul şi gravitatea infecţiei, de la 5 la 14 zile. Dacă a fost cazul, pacienţii au fost sfătuiţi să evite expunerea excesivă sau prelungită la soare, în cursul continuării în ambulator a tratamentului cu fluorochinolone.

Rezultate

Pacienţii selectaţi iniţial (n=50), cu vârstă medie de 51,02 +/- 11,37 ani, prezentau în antecedentele personale reacţii adverse la beta-lactamine, majoritatea fiind reacţii sistemice de tip anafilactic (30%) şi urticarie şi / sau angioedem (54%).

Au fost raportate şi cazuri de sindrom de tip boala serului, eritrodermie, erupţii maculopapulare de tip morbiliform şi necroliza epidermică toxică (Tabelul I).

Tabelul I. Reacţiile adverse la beta-lactamine la pacienţii studiaţi (n=50)

Tipul de reacţie adversă medicamentoasă	Pacienţi cu antecedente personale
urticarie / angioedem	54%
anafilaxie	30%
eritrodermie	4%
sindrom de tip boala serului	2%
erupţii maculopapulare	2%
necroliza epidermică toxică	2%

Beta-lactaminele implicate în producerea acestor reacţii adverse medicamentoase au fost: benzilpenicilina şi fenoximetilpenicilina (66% din cazuri), ampicilina şi amoxicilina (34%), oxacilina (8%) şi cefalosporinele (4%) (Figura 2). Dintre acestea din urmă au fost incriminate anamnestic doar două, una de primă generaţie, cefalexina, şi alta de a treia generaţie, ceftazidima.

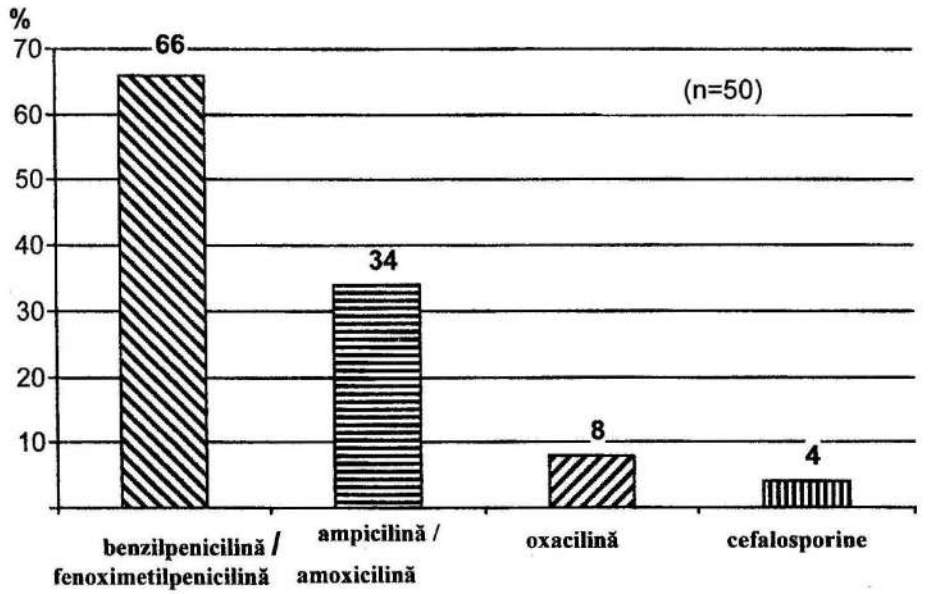


Fig. 2. Reacţiile adverse la beta-lactamine, raportate de pacienţi

Dintre pacienţii provocaţi (n=37), 24,32% au fost atopici, prezentând teste cutanate pozitive la aeroalergeni (cel puţin un test prick pozitiv la acarianul

Dermatophagoides pteronyssinus, mucegaiuri amestec, polen amestec de arbori timpurii *Betulaceae*, polen amestec de graminee şi ierburi) şi / sau niveluri crescute ale IgE totale.

Patologia asociată la pacienţii provocaţi cu fluorochinolone a fost reprezentată de antecedente personale de intoleranţă la antiinflamatoare nesteroidiene sau analgezice opioide (43,24%), reacţii sistemice de diferite grade de severitate la venin de *Apis mellifera* (8,1%), afecţiuni cardiovasculare de tipul hipertensiunii arteriale sau cardiopatiei ischemice cronice (16,21%), astm bronşic (13,51%), infecţii cronice cu virusuri hepatitice B sau C (13,51%), cu sau fără crioglobulinemie mixtă (Figura 3).

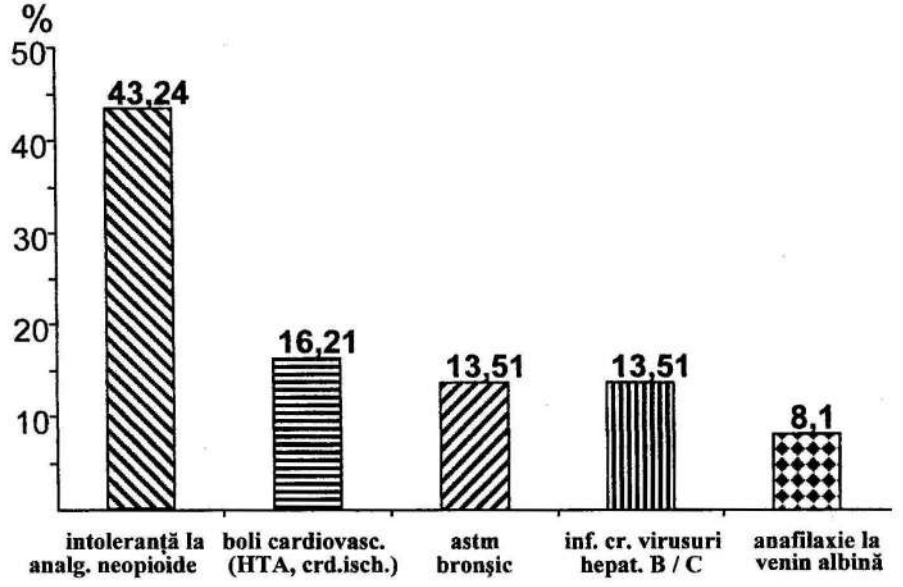


Fig. 3. Patologia asociată la pacienţii provocaţi cu fluorochinolone (n=37)

Provocările orale s-au realizat cu ciprofloxacină 500 mg, la 43,24% dintre pacienţii incluşi în lot (n=16) sau cu lomefloxacină 400 mg, la 56,76% dintre ei (n=21). Indicaţiile administrării lor au fost reprezentate de infecţii de tract urinar superior şi inferior (75,68%), infecţii de tract respirator (21,62%) sau diaree bacteriană (2,7%), cauzate de microorganisme susceptibile (Figura 4).

Rezultatul provocărilor orale cu fluorochinolone a fost că nici un pacient nu a prezentat RAM alergice imediate sau accelerate, cutanate sau sistemice, induse de ciprofloxacină sau lomefloxacină. Evaluarea postspitalicească a reacţiilor adverse tardive în cursul tratamentului cu fluorochinolone a relevat două cazuri de diaree moderată la ciprofloxacină şi unul de fotodermatită la lomefloxacină (la o pacientă care nu a respectat indicaţiile de fotoprotecţie). Ambele s-au remis în

câteva zile, cu tratament simptomatic, şi deoarece nu au fost severe şi au apărut la sfârşitul tratamentului antibiotic, nu a fost necesară întreruperea lui.

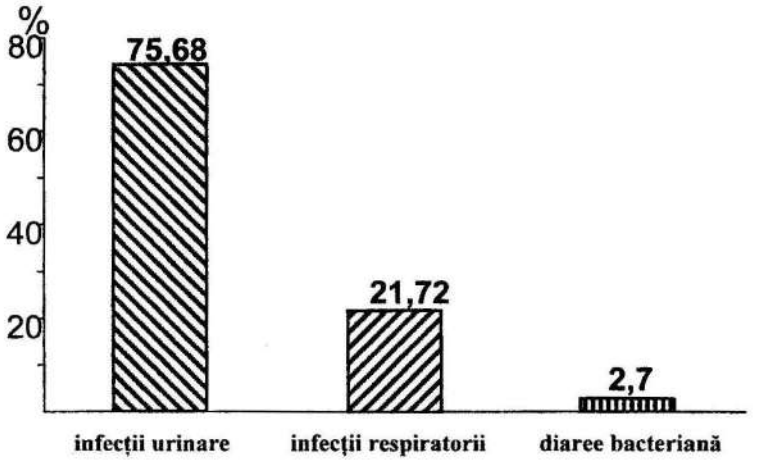


Fig. 4. Indicaţiile provocărilor orale cu fluorochinolone de generaţia a doua (n=37)

Discuţii

Prevalenţa globală a alergiei la penicilină este de aproximativ 4%. Până la 10% din pacienţii spitalizaţi raportează alergie la acest antibiotic. Evaluarea recentă a 1893 de pacienţi internaţi într-o perioadă de doi ani (Lee şi colab., 2000) a evidenţiat că 25% (n=473) din bolnavii care necesitau antibioterapie au raportat în antecedente alergie la cel puţin un antibiotic, dintre aceştia 63% (n=295) au susţinut anamnestic o reacţie la penicilină, iar 18% au raportat alergii multiple la antibiotice. Incidenţa reacţiilor alergice la penicilină este de 4-8%. Incidenţa reacţiilor imediate (cu debut sub 1 oră de la administrarea medicamentului) este de 0,5-2%, incidenţa anafilaxiei fiind de 0,004%, cea a reacţiilor accelerate (cu debut la 1-72 de ore), de tipul urticariei / angioedemului, pruritului, este de 1%, şi cea a reacţiilor tardive (după 72 de ore), de tipul erupţiilor maculopapulare, este de 3-5%. Cele mai temute RAM la beta-lactamine sunt cele imediate sau accelerate, IgE-mediate. Dintre reacţiile mai tardive, tot ameninţătoare de viaţă, trebuie menţionate sindromul Stevens-Johnson şi dermatita exfoliativă. Exantemele maculopapulare (morbiliforme) sunt RAM tardive, neameninţătoare de viaţă.

Au existat motivaţii importante în alegerea obiectivului studiului. Orice istoric de reacţie alergică la beta-lactamine care implică fie angioedem cu localizare de gravitate, urticarie generalizată, bronhospasm sau şoc anafilactic, ori reacţie severă non-IgE-mediată, de tipul eritemului polimorf, sindromului Stevens-Johnson, necrolizei epidermice toxice, eritrodermiei sau dermatitei exfoliative, impune evitarea reprovocării şi alegerea unei clase alternative de medicaţie

antiinfecţioasă. Desensibilizarea la penicilină are la momentul actual indicaţii foarte limitate, cum ar fi neurosifilisul, infecţia sifilitică la gravide şi endocardita bacteriană. Nici unul dintre bolnavii incluşi în studiu nu a prezentat o astfel de infecţie. Deoarece pacienţii cu antecedente personale de reacţii de hipersensibilitate la beta-lactamine prezentau infecţii cauzate de bacili aerobi gram-negativ am luat în consideraţie administrarea de fluorochinolone. Am ţinut cont întotdeauna de rezultatul antibiogramei, pentru că am considerat inoportună utilizarea abuzivă a chinolonelor la pacienţii alergici la beta-lactamine, pentru orice tip de infecţie.

Opţiunea pentru ciprofloxacină şi lomefloxacină s-a bazat pe faptul că sunt chinolone de generaţia a doua, disponibile pentru administrarea orală, iar preparatele comerciale alese, aveau atât avantaje alergologice legate de lipsa anumitor coloranţi din compoziţia excipienţilor, cât şi avantaje farmacoeconomice, referitoare la costul zilnic al farmacoterapiei antibacteriene.

Comparativ cu chinolonele de primă generaţie (acidul nalidixic şi cinoxacina), ele au aplicaţii clinice mai diverse, atât în tratamentul infecţiilor de tract urinar, a bolilor cu transmitere sexuală, cât şi a infecţiilor respiratorii şi a celor cutanate cu germeni sensibili. Cinoxacina şi acidul nalidixic necesită administrarea mai frecventă a dozelor şi sunt mai susceptibile la dezvoltarea rezistenţei bacteriene (King şi colab., 2000).

Deşi chinolonele de generaţia a treia (levofloxacina, gatifloxacina, moxifloxacina şi sparfloxacina) au o activitate extinsă de germenii gram-pozitiv, sunt mai puţin active pe speciile de *Pseudomonas*, comparativ cu ciprofloxacina. Sparfloxacina are un risc semnificativ de fotosensibilitate (Lietman, 1995), iar grepafloxacina, sparfloxacina şi moxifloxacina pot prelungi intervalul QT, în timp ce gatifloxacina nu are un astfel de efect. Cu toate acestea, FDA recomandă ca toate aceste medicamente să fie evitate la pacienţii trataţi cu alte medicamente cunoscute că prelungesc QT, inclusiv fenotiazinele. Am ţinut cont de acest aspect deoarece în trusa de urgenţă pentru tratamentul eventualelor reacţii severe medicamentoase la protocolul de provocare orală era inclusă prometazina, antihistaminic H_1, derivat de fenotiazină pentru administrare sistemică.

Trovafloxacina, chinolonă din a patra generaţie, deşi adaugă o activitate antimicrobiană semnificativă faţă de anaerobi (inclusiv *Bacteroides*), menţinând activitate faţă de germenii gram-pozitiv şi gram-negativ asemănătoare cu cea a chinolonelor de generaţia a treia şi activitate faţă de *Pseudomonas* comparabilă cu cea a ciprofloxacinei (Brighty şi colab., 1997), trebuie rezervată infecţiilor severe, ameninţătoare de viaţă, datorită temerilor legate de hepatotoxicitate. Altă fluorochinolonă, grepafloxacina, a fost retrasă din uz datorită posibilităţii apariţiei torsadei vârfurilor în timpul tratamentului.

Alegerea criteriilor de neincludere în lotul de pacienţi supuşi provocărilor orale s-a făcut pornind de la contraindicaţiile administrării fluorochinolonelor şi a substanţelor medicamentoase din trusa de urgenţă, în special a adrenalinei. În plus, tratamentul cu beta-blocante a fost inclus în lista acestor criterii deoarece creşte probabilitatea şi severitatea anafilaxiei şi blochează răspunsul favorabil la

adrenalină (Lee şi colab., 2000). Pacienţii aflaţi în tratament concomitent cu antiinflamatoare nesteroidiene nu au fost incluşi, pe de o parte deoarece o mare parte din subiecţii lotului iniţial prezentau concomitent intoleranţă la acest tip de medicaţie, dar şi datorită faptului că administrarea asociată a fluorochinolonelor cu antiinflamatoarele nesteroidiene poate induce convulsii (George şi colab., 1996). Noi am introdus pe lista criteriilor de neincludere şi vârsta copilăriei şi adolescenţei, dar temerile legate de efectele adverse asupra articulaţiilor (alterarea cartilajului articular imatur) derivă doar din datele experimentale la animalele tinere, un studiu clinic realizat la mai mult de o mie de copii trataţi cu ciprofloxacină nu a constatat frecvenţă crescută a artropatiilor (Chysky şi colab., 1991).

Provocările medicamentoase s-au realizat în mediul intraspitalicesc pentru evaluarea factorilor individuali de risc şi monitorizarea corespunzătoare a bolnavilor. Pacienţii alergici la peniciline au un risc de trei ori mai mare de a prezenta reacţii adverse la alte medicamente. La cei cu orice alergic la medicament antimicrobian în istoric, există o posibilitate de 14% de a dezvolta o reacţie alergică la orice antibiotic administrat ulterior. Provocările efectuându-se la pacienţi luaţi în evidenţă într-o clinică de alergologie, s-a evaluat în prealabil starea de atopie. Pacienţii atopici, odată sensibilizaţi la penicilină, dezvoltă mai frecvent reacţii alergice severe sau fatale la penicilină comparativ cu pacienţii neatopici (DeSwarte şi colab., 1997). Deşi atopia nu creşte riscul de reacţii alergice, există un risc mai mare al reacţiior fatale în cazul apariţiei anafilaxiei (Lee şi colab., 2000).

Nu am neglijat nici faptul că fluorochinolonele pot produce reacţii pseudoalergice, caracterizate prin fenomenul de primă doză, în care reacţia apare în ciuda lipsei sensibilizării prealabile. Aproximativ 50% din reacţiile acute de hipersensibilizare la ciprofloxacină apar la administrarea primei doze. Nu se poate exclude complet posibilitatea sensibilizării oculte, datorită prezenţei fluorochinolonelor în unele alimente, dar sensibilizarea primară pare a necesita doze semnificativ mai mari de medicament decât cele existente în produsele alimentare.

Un aspect interesant constatat în studiu a fost prezenţa la unii pacienţi cu RAM la beta-lactamine a infecţiei cronice cu virusuri hepatitice B şi C, cu sau fără crioglobulinemie mixtă, fără valori crescute ale transaminazelor serice sau imagistică ultrasonografică sugestivă pentru afectare hepatică.

Există ipoteza conform căreia infecţiile virale pot creşte susceptibilitatea pacienţilor la RAM prin producerea unor alterări biologice la nivelul sistemului imunitar (De Shazo şi colab., 1997). Prin deprimarea capacităţii de metabolizare a ficatului, virusurile pot produce modificări farmacocinetice. Ca urmare a alterării metabolismului medicamentos pot apăre RAM severe. Sistemul enzimatic al citocromului P-450, responsabil de biotransformarea multor substanţe medicamentoase, poate fi deprimat în cursul anumitor infecţii virale, la animal sau la om. S-a postulat că producţia de interferon indusă viral poate duce la inhibarea citocromului P-450 (Levy, 1997). Exemple sugestive sunt erupţiile cutanate

maculopapulare care apar aproape la toţi bolnavii infectaţi cu virusul Epstein-Barr şi trataţi în faza acută cu ampicilină (Haverkos et al, 1991) şi reacţiile de hipersensibilitate la sulfamide la pacienţii infectaţi cu virusul HIV. RAM la cotrimoxazol la aceşti subiecţi sunt similare celor apărute la neiinfectaţi, dar frecvenţa este mai mare în populaţia seropozitivă. Este posibil ca riscul crescut de reacţii alergice la sulfamide să fie datorat răspunsurilor anormale în secreţia imunoglobulinelor, reducerii glutationului hepatic, nivelurilor plasmatice scăzute ale cisteinei, asociate cu reducerea detoxifierii unor metaboliţi toxici ai sulfametoxazolului, care sunt imunogenici (Naisbitt şi colab., 2001). S-a sugerat că defectele complexe la nivelul celulelor B şi T pot induce alergii medicamentoase multiple la pacienţii infectaţi cu HIV, constatându-se risc crescut de RAM şi la alte medicamente cum ar fi dapsona, carbamazepina şi penicilinele (Coopman et al, 1993).

În ceea ce priveşte beta-lactaminele incriminate în producerea RAM la pacienţii selectaţi iniţial, este dificil de comentat frecvenţa implicării diferitelor preparate de peniciline sau cefalosporine, având în vedere produsele comerciale disponibile şi caracteristicile de farmacografie din variate perioade de timp, la pacienţi cu diferenţe ale statusului socio-economic şi de educaţie medicală.

Rezultatele testelor de provocare orală cu fluorochinolone de generaţia a doua şi ale evaluării întregului tratament antimicrobian din punct de vedere al reacţiilor adverse tardive sunt în concordanţă cu părerea majorităţii autorilor că fluorochinolonele sunt în general bine tolerate, cu puţine efecte adverse (Norrby şi colab., 1993).

Cele mai frecvente efecte adverse ale fluorochinolonelor sunt greaţa, voma şi diareea, care apar la 3-6% din pacienţi (Fitton, 1992). În studiul nostru am raportat două cazuri care au prezentat diaree la ciprofloxacină. Dintre alte efecte mai grave, dar mai puţin frecvente, de tipul celor de la nivelul sistemului nervos central (cefalee, convulsii, confuzie şi ameţeală), a fotosensibilităţii (mai frecvent pentru lomefloxacină şi sparfloxacină), a cardiotoxicităţii (sparfloxacina) şi a hepatotoxicităţii (trovafloxacina) (King şi colab., 2000), noi am raportat doar un caz de fotodermatită la lomefloxacină, dar trebuie să ţinem cont că nu am utilizat decât fluorochinolone de a doua generaţie.

Deşi am menţionat reacţia de fotosensibilitate la lomefloxacină, nu am constatat nici o RAM cutanată la ciprofloxacină, ceea ce este în concordanţă cu analiza datelor din experienţa acumulată la 30000 de bolnavi trataţi cu ciprofloxacină, care a evidenţiat că reacţiile adverse cutanate sunt neobişnuite (1,4%), în timp ce predominante sunt efectele adverse gastrointestinale (5%). RAM dermatologice documentate sunt, în ordinea frecvenţei: erupţii cutanate, prurit şi fotosensibilitate (Halkin, 1988), dar întreruperea tratamentului nu a fost necesară la nici un pacient. Din datele unui producător farmaceutic de ciprofloxacină, incidenţa urticariei ca efect advers este de 50 de cazuri *per* milion, iar eritemul polimorf a fost raportat doar la 10 cazuri (Landor, 1996). Un alt raport, care a analizat datele de la 9400 de bolnavi trataţi cu ciprofloxacină a relevat o incidenţă scăzută a

efectelor adverse cutanate (1,6%) şi o severitate uşoară spre moderată a acestora (Schacht şi colab., 1989). Reacţiile au fost reprezentate de erupţii maculopapulare la jumătate din pacienţi, prurit la o treime, şi în puţine cazuri, eritem, hipersudoraţie, urticarie, angioedem. Raportările de efecte adverse cutanate severe sau generalizate induse de chinolone sunt foarte rare: câteva cazuri de vasculită cutanată (Beuselinck şi colab, 1994; Gamboa şi colab., 1995), un caz de erupţie buloasă cu caracteristici histologice de dermatită herpetiformă (Landor şi colab., 1996), unul de eritem polimorf cu neutropenie (Imrie şi colab, 1993), altul de eritem polimorf cu insuficienţă renală acută (Allon şi colab., 1990) şi un caz de sindrom de tip boala serului (Guharoy, 1994) la ciprofloxacină.

Mecanismele de inducere a reacţiilor adverse la chinolone par a fi mediate de procese imunologice, care pot implica variate mecanisme de hipersensibilitate (Landor şi colab., 1996). S-a sugerat incriminarea unei componente moleculare comune, un complex cu inel chinolonic, grupări piperazinice şi fluor (Kimura şi colab., 1998). Există cazuri de hipersensibilitate încrucişată la chinolone: erupţie fixă medicamentoasă la ciprofloxacină şi norfloxacină (Alonso şi colab., 1993), la ciprofloxacină şi ofloxacină (Kawada şi colab., 1994), fotosensibilitate la lomefloxacină, ciprofloxacină, fleroxacină (Kimura şi colab., 1998). Mecanismele fotosensibilităţii la chinolone par a fi atât fototoxice, cât şi fotoalergice (Lietman, 1995). Dacă în cazul sindromului de tip boala serului complexele imune circulante mediază reacţia, în cazurile de eritem polimorf, mecanismul care trebuie luat în consideraţie este hipersensibilitatea de tip celular.

Pruritul, urticaria, angioedemul şi anafilaxia pot apărea la prima expunere la chinolone, ceea ce poate pleda împotriva mecanismelor mediate IgE, sugerându-se eliberarea mediatorilor mastocitari printr-un proces anafilactoid mediat de complement sau eliberarea directă a mediatorilor de către substanţa medicamentoasă.

Incidenţa reacţiilor sistemice nu s-a putut stabili exact. S-au descris reacţii anafilactoide şi la pacienţii HIV pozitivi, într-un număr mai mare decât la cei seronegativi (Deamer şi colab., 1992).

În studiul nostru, nu am constatat nici o reacţie sistemică imediată la ciprofloxacină sau lomefloxacină, la pacienţii provocaţi oral.

Concluzie

Pacienţii cu hipersensibilitate la beta-lactamine necesită uneori medicamente antibacteriene alternative, altele decât macrolidele. Fluorochinolonele cu spectru antiinfecţios larg, de tipul ciprofloxacinei şi lomefloxacinei, sunt bine tolerate la pacienţii cu reacţii adverse medicamentoase la peniciline şi cefalosporine.

Bibliografie

1. ADKINSON N.F. Jr. Immunogenicity and cross-allergenicity of aztreonam, Am J Med, 1990, 88(3C): 12S-15S.
2. ALLON M., LOPES E., KYUNG-WHAN M. Acute renal failure due to ciprofloxacin, Arch Intern Med, 1990, 150: 21879.
3. ALONSO M., MARTIN J., QUIRCE S. Fixed eruption caused by ciprofloxacin with cross sensitivity to norfloxacin, Allergy, 1993, 48: 2967.
4. BEUSELINCK B., DEVUYST O. Ciprofloxacin-induced hypersensitivity vasculitis, Acta Clin Belg, 1994, 49(3-4): 173-176.
5. BRIGHTY K.E., GOOTZ T.D. The chemistry and biological profile of trovafloxacin, J Antimicrob Chemother, 1997, 39(suppl B): 1-14.
6. CHYSKY V., KAPILA K., HULLMANN R., ARCIERI G., SCHACHT P., ECHOLS R. Safety of ciprofloxacin in children: worldwide clinical experience based on compassionate use. Emphasis on joint evaluation, Infection, 1991, 19: 289-296.
7. COOPMAN S., JOHNSON R., PLATT R. Cutaneous disease and drug reactions in HIV infection, N Engl J Med, 1993, 328: 1670-1674.
8. DE SHAZO R., KEMP S. Allergic reactions to drugs and biologic agents, JAMA, 1997, 278: 1895-1906.
9. DEAMER R.L., PRICHARD J.G., LOMAN G.J. Hypersensitivity and anaphilactoid reactions to ciprofloxacin, Ann Pharmacotherapy, 1992, 26(9), 1081-1084.
10. DESWARTE R.D., PATTERSON R. Drug allergy, in: Allergic diseases diagnosis and management, eds. Patterson R., Grammer L., Greenberger P., fifth ed., Lippincott-Raven Publ, Philadelphia, 1997, 17: 365-375.
11. FITTON A. The quinolones. An overview of their pharmacology, Clin Pharmacokinet, 1992, 22(suppl 1): 1-11.
12. GAMBOA F., RIVERA J.M., GOMEZ MATEOS J.M. Ciprofloxacin-induced Henoch-Schonlein purpura, Ann Pharmacother, 1995, 29: 84.
13. GEORGE C.F. and THE JOINT FORMULARY COMMITTEE 1996-97. British National Formulary, British Medical Association and Royal Pharmaceutical Society of Great Britain, 1996, 259-262.
14. GLECKMAN R.A., BORREGO F. Adverse reactions to antibiotics. Clues for recognizing, understanding, and avoiding them. The practical peer-reviewed Journal for primary care physicians, postgraduate medicine, 1997, 101:4.
15. GUHAROY S. Serum sickness secondary to ciprofloxacin use, Vet Human Toxicol, 1994, 36: 540.
16. HALKIN H. Adverse effects of fluoroquinolones, Rev Infect Dis, 1988, 10(s1): s25861.
17. HAVERKOS H., AMSEL Z., DROTMAN D. Adverse virus-drug interactions, Rev Infect Dis, 1991, 13: 697-704.
18. IMRIE K., GOLD W., SALIT I., KEATING A. Ciprofloxacin-induced neutropenia and erythema multiforme, Am J Hematol, 1993, 43: 15960.
19. JOHANSSON S.G.O., HOURIBHANE J.O'B. BOUSQUET J., şi colab. A revised nomenclature for allergy: An EAACI position statement for the EAACI nomenclature taskforce, Allergy, 2001, 56 (9): 813.
20. JUST P.M. Overview of the fluoroquinolone antibiotics, Pharmacotherapy, 1993, 13: 4S-17S.
21. KAWADA A., HIRUMA M., MORIMOTO K. Fixed drug eruption induced by ciprofloxacin followed by ofloxacin, Contact Dermatitis, 1994, 31: 1823.
22. KIMURA M., KAWADA A. Photosensitivity induced by lomefloxacin with cross-photosensitivity to ciprofloxacin and fleroxacin, Contact Dermatitis, 1998, 38: 180.
23. KING D.E., MALONE R., LILLEY S.H. New classification and update on the quinolone antibiotics, Am Fam Physician, 2000, 61: 2741-2748.

24. LANDOR M., LASHINSKY A., WAXMAN J. Quinolone allergy?, Ann Allergy Asthma Immunol, 1996, 77(4): 273-276.
25. LEE C.E., ZEMBOWER T.R., FOTIS M.A. The incidence of antimicrobial allergies in hospitalized patients, Arch Intern Med, 2000, 160: 2819-2822.
26. LEVY M. Role of viral infections in the induction of adverse drug reactions, Drug Safety, 1997, 16: 1-8.
27. LIETMAN P.S. Fluoroquinolone toxicities. An update, Drugs, 1995, 49(s2): 159-163.
28. NAISBITT D.J., GORDON S.F., PIRMOHAMED M., BURKHART C., CRIBB A.E., PICHLER W.J., PARK B.K. Antigenicity and immunogenicity of sulphamethoxazole: demonstration of metabolism-dependent haptenation and T-cell proliferation *in vivo*, Br J Pharmacol, 2001, 133: 295-305.
29. NORRBY S.R., LIETMAN P.S. Safety and tolerability of fluoroquinolones, Drugs, 1993, 45(suppl 3): 59-64.
30. PIRMOHAMED M., PARK B.K. Genetic susceptibility to adverse drug reactions, Trends in Pharmacological sciences, 2001, 22(6): 298-305.
31. SCHACHT P., ARCIERI G., HULLMAN R. Safety of oral ciprofloxacin, Am J Med, 1989, 87(suppl 5A): 98102s.

AFECTAREA HEPATICĂ DUPĂ RIFAMPICINĂ LA PACIENȚII CU MENINGITĂ TUBERCULOASĂ

Cătălina Luca, Carmen Dorobat, A. Teodor, D. N. Teodor, R. Scurtu, V. Luca
Universitatea de Medicină şi Farmacie "Gr.T.Popa", Iaşi
Clinica de Boli Infecţioase

Abstract
Objectives: The study has the aim to evidence the clinico-biologic and therapeutic aspects of the patients with tuberculous meningitis who developed liver involvement after Rifampicine in the course of the antituberculous treatment.
Material and method: Were retrospectively analized 32 cases of liver involvement after Rifampicine at 32 patients with tuberculous meningitis, hospitalized in the Clinic of Infectious Diseases of Iasi during 4 years, the monitoring of liver function being realized through liver tests.
Results: At the studied patients the incidence of the liver involvement was of 39%, between 4 and 13 cases per year in a rapport of 25 – 4% from the number of patients treated with antituberculous drugs. Most of the cases were from the group of age of adults (71.8%). The clinical manifestations of liver involvement were: nausea (37.5%), vomiting (31.25%), abdominal pains (59.3%), jaundice (31.25 and fever (18.75%). The high level of ALAT were of 3-20 times the normal values, marked this liver involvement in 87.5% cases and normalization of these values was realized in medium in 10-20 days after interrupting the therapy.
Conclusions: It is necessary the monitoring of this liver function during the antituberculous therapy, observing the progressive growing of the number of cases of liver involvement after Rifampicine from year to year.
The rifampicinic liver involvement is an adverse reaction but also a complication of the Rifampicine treatment in the course of the antituberculous treatment of patients with bacillary meningitis in the context of the group of number the cases of tuberculous meningitis and generaly tuberculosis together with the number of resistant strains of Koch bacillus.

Obiective: Lucrarea a avut drept scop evidenţierea aspectelor clinicoterapeutice ale pacienţilor cu meningită tuberculoasă, care au dezvoltat hepatopatie rifampicinică în cursul terapiei cu antituberculoase.

Material şi metode: Au fost analizate retrospectiv 32 cazuri de hepatopatie rifampicinică, la 82 pacienţi cu meningită tuberculoasă internate în Clinica de Boli Infecţioase Iaşi în perioada 1989-2002, monitorizarea funcţiilor hepatice fiind realizată prin urmărirea probelor hepatice (ALAT, bilirubinemie).

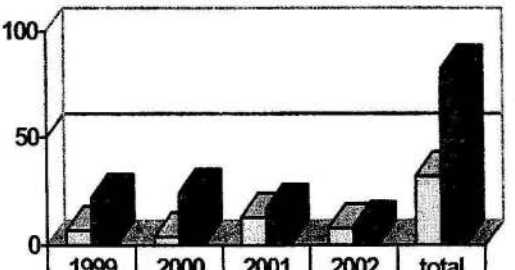
Rezultate: În Clinica de Boli Infecţioase Iaşi monitorizarea funcţiei hepatice se realizează în cursul oricărui tratament cu antituberculoase ce include obligatoriu Rifampicina, alterarea acesteia survenind de regulă după 2 săptămâni de la începerea tratamentului (Holdiness, 1987, Luca C.M., 1997). Frecvenţa hepatitei rifampicinice la bolnavii cu meningită TBC a fost de 39%, oscilând între 4 şi 13 cazuri pe an într-un raport de 2,5-4%, faţă de numărul bolnavilor trataţi cu medicamente antituberculoase.

În lotul de pacienţi studiaţi, distribuţia anuală a cazurilor de hepatopatie rifampicinică a arătat cele mai multe cazuri la grupa de vârstă a adultului (71,8%) (tabel I).

Tabel I. Hepatopatia rifampicinică în meningita tbc letală

Interval de timp (zile)	Nr.cazuri	ALAT (UI)
2	1	160
8	1	200-300
10-20	1	300-500
Total	3	Limite 160-500

Cele mai multe cazuri (13%) au fost înregistrate în anul 2001 – 13 cazuri, reprezentând 76,47% din totalul meningitelor bacilare; 8 cazuri din 9 cu meningită tbc (88,88%), în primele 8 luni ale anului 2002, 7 cazuri (31,81%) în 1999 şi 4 cazuri în 2000 (16,66%) (Fig.1).



	1999	2000	2001	2002	total
hepatopati rifampicinica	7	4	13	8	32
meningita tbc	22	24	17	9	82

Fig. 1. Distribuţia anuală a cazurilor de hepatopatie rifampicinică

Intervalul de timp la care a apărut această complicație a variat între 5 şi 21 de zile (Fig. 2).

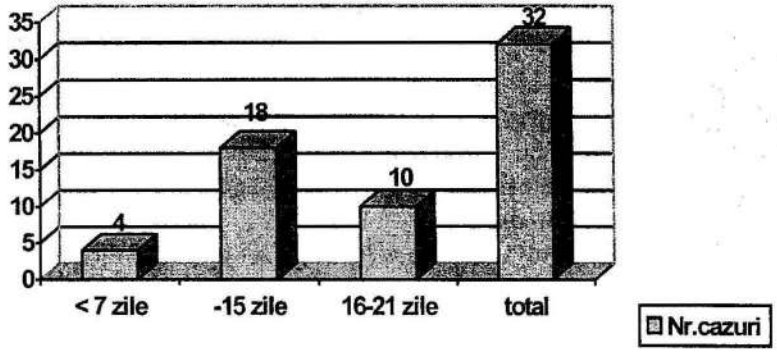


Fig. 2. Hepatopatia rifampicinică – număr de zile de la instituirea terapiei

Majoritatea cazurilor de toxicitate hepatică s-au înregistrat între zilele a 7-a şi a 15-a de terapie, reprezentând 56,86%, circa 1/3 dintre cazuri apărând între zilele a 16-a şi a 21-a şi doar 31,3% cazuri au apărut după 4-5 zile de la inițierea terapiei, reprezentând 11,7%.

Din punct de vedere clinic, hepatopatia rifampicinică s-a manifestat prin: greață – 28 pacienți, reprezentând 87,5%; vărsături – la 30 pacienți (93,75%); dureri abdominale la toți pacienții; icter prezent la 18 bolnavi (56,25%) şi febră – prezentă la 14 pacienți (43,75%) (Lorber, 1960) (Fig.3).

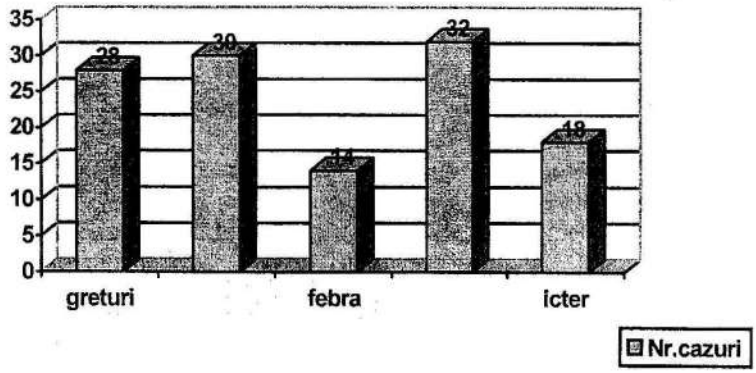


Fig. 3. Manifestări clinice în hepatopatia rifampicinică

Constantele de laborator au arătat creşteri de până la 20 ori a valorilor normale ale transaminazelor glutampiruvice: TGP între 60 şi 4000 g/l, valori care au marcat hepatopatia rifampicinică la toţi pacienţii. În acest timp valorile bilirubinei serice au crescut doar de 2-3 ori peste valoarea normală (adică 24-42 mg/l) (Fig. 4). Valorile alaniltransferazei au variat în cadrul hepatopatiei medicamentoase între 101 şi 200 UI/l la 15 pacienţi (46,87%); valori între 75 şi 100 UI/l la 6 bolnavi (18,75%), valori ale TGP între 201 şi 300 UI/l la 8 cazuri, reprezentând 25% şi doar în 3 cazuri a avut valori cuprinse între 301 şi 400 UI/l (9,37%).

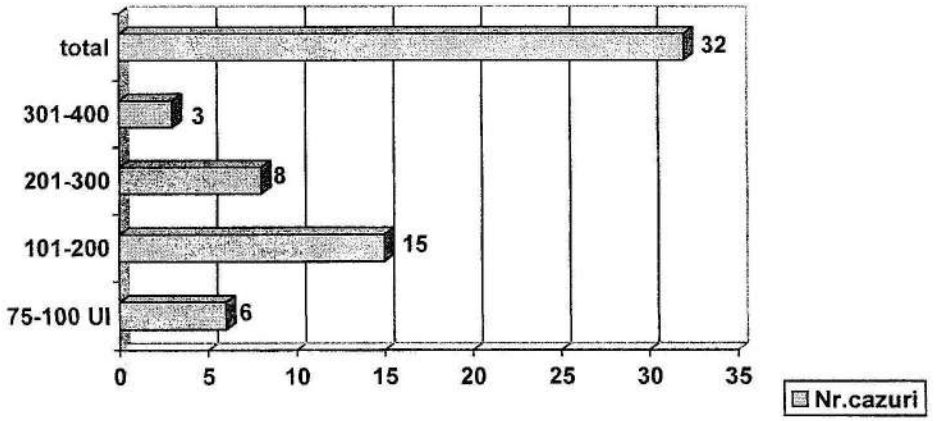


Fig. 4. Valorile ALAT în hepatopatia medicamentoasă

În lotul de pacienţi studiaţi, letalitatea a fost de 8,53%, adică 7 cazuri, dintre care 3 (42,80%) – cazuri pediatrice. Sexul masculin are o mai mare receptivitate faţă de infecţia meningiană cu bacilul Koch şi el a furnizat 66,6% dintre decese. Decesele au fost mai frecvente la pacienţii din mediul rural şi la extremele de vârstă: 30,30% cazuri la sugari, 27,7% la grupa de vârsta a copilului mic şi 16,6% la grupa vârstnicilor. Diagnosticul meningitei tuberculoase s-a realizat la decedaţi prin examenul lichidului cefalorahidian cu aspect clar şi limfomatoza în 35,18% cazuri, cu valori peste 90% şi în 37% cazuri cu valori de 70-89%, albuminorahie crescută peste 1 g‰ şi glicorahie şi clororurorahie scăzute (Setle, 1993). Cultura lichidului cefalorahidian pe mediu Löwenstein-Jensen a fost pozitivă în 20% cazuri, iar diagnosticul anatomo-patologic postmortem a evidenţiat leziuni clasice de meningita bazilară, precum şi alte leziuni vasculare, 35% dintre cazuri prezentând tuberculoza pulmonară şi generalizată. Hepatopatia rifampicinică s-a constituit ca cel mai important dintre efectele adverse ale terapiei antituberculoase, fiind evidenţiate la 3 din cele 7 decese (42,85%), toate la grupa de

vârsta a copilului. Creşterea transaminazelor serice a variat la pacienţii ce au decedat între 160 şi 500 UI/l, respectiv 1 caz cu TGP 160 UI/l (instalat a 2-a zi de la debutul tratamentului), 1 caz cu TGP 230 UI/l, caz apărut a 8-a zi de la începerea tratamentului şi 1 caz cu valorile TGP de 450 UI/l, creşterea transaminazei apărută între 10-20-a zi de terapie antituberculoasă. Deci apariţia toxicităţii hepatice a survenit sub terapie antituberculoasă după 2, 8 şi a 18-a zi.

Factorii majori ai prognosticului infaust au fost reprezentaţi de: vârsta mică, gravitatea la internare (coma de diferite grade), precum şi momentul tardiv al internării, decesul producându-se în primele zile de internare la 70% dintre bolnavi (Snider, 1992)

În aprecierea rezultatelor terapiei etiologice în meningita tuberculoasă trebuie reţinută precocitatea instituirii terapiei cu antituberculoase care s-a instituit în primele 48 de ore de la internare la 74,69% dintre cazuri (Sennerville, 1995). Parametrii luaţi în consideraţie pentru aprecierea efectelor terapiei cu 4 tuberculostatice au fost:

- ieşirea din comă, mai rapid după cvadrupla asociere de tuberculostatice;
- remiterea sindromului de contractura meningeană şi a unor simptome neuropsihice la pacienţii cu conştient păstrat;
- scăderea letalităţii.

În perioada studiată se observa o creştere progresivă a cazurilor de hepatopatie rifampicinică de la an la an.

Normalizarea constantelor de laborator (transaminazelor şi bilirubinei) s-a realizat în medie în a 10-20-a zi de la întreruperea Sinerdolului şi înlocuirea acestuia cu Streptomicina.

În 90% dintre cazuri, reintroducerea în terapie a Rifampicinei după cele 2-3 săptămâni a fost bine tolerată şi numai la 5 bolnavi a fost nevoie de a 2-a întrerupere şi apoi reluare a terapiei.

Examenul bioptic efectuat demonstrează în plus participarea ficatului aproape la toate formele de tuberculoză meningeană (92%).

Studiile anterioare pe bolnavi cu meningită tuberculoasă au demonstrat că există o corelaţie între modificările morfologice ale ficatului şi gradul insuficienţei hepatice ce au fost puse în evidenţă prin teste biochimice, găsindu-se particularităţi ale funcţiei ficatului (Soraira da Cunhe, 1988).

Concluzii

1. S-au analizat 32 cazuri de hepatopatie rifampicinică la 82 bolnavi cu meningita tbc, spitalizate în Clinica Boli Infecţioase Iaşi în perioada 1999-2002, incidenţa toxicităţii rifampicinice fiind 39%.
2. Intervalul de timp la care a survenit această complicaţie a variat de la 5-21 zile.
3. Toxicitatea rifampicinică s-a manifestat clinic prin: icter – 56%, simptome gastro-intestinale – 93% şi febră – 43%, în 81% cazuri fiind remarcat un intens

sindrom de citoliză hepatică ce a apărut în a 10-20-a zi de la începerea terapiei.

4. Valorile transaminazelor serice au variat, cele mai multe cazuri între 100-200 U.I. (46,87%).
5. Normalizarea constantelor s-a realizat în medie în a 10-20-a zi de la întreruperea Sinerdolului şi înlocuirea acestuia cu Streptomicina.

Bibliografie

1. HOLDINESS M.R., Neurological manifestations and toxicities of the antituberculosis drugs, Med.Toxicol, 1987, 2, 33-51.
2. LORBER J., Treatment of tuberculous meningitis, Br.Med.J., 1960, 1309, 12.
3. LUCA M.C., Studii terapeutice in meningita tuberculoasa, Teza de doctorat, 1997.
4. SENNERVILLE E., Traitement des patients porteurs de souches resistantes, Med.Mal.Infect., 1995, 25, 369-376.
5. SETLE V. ET AL., Serum concentration of rifampicin and isoniazid in tuberculosis, Indian Ped., 1993, 30, 1091-1098.
6. SNIDER D.E., ROPER W.L., The new tuberculosis, New Engl.J.Med., 1992, 326, 703-705.

REACȚII ALERGICE LA BETA - LACTAMINE

Maria Puschita, Camelia Ciacli, Virginia Gligor,
Alciona Sasu
Universitatea de Vest "V. Goldiş" Arad, Facultatea de Medicină Generală

Abstract
One of the most important side effects to drugs is the allergic one. All allegic reactions to drugs have the same mechanism – the imune one.
The allergic reactions to drugs maniffest through a great variety of aspects. All the antibiotics included in betalactamine group are chemically characterised by a lactamic ring.
In this group of antibiotics, that which produces most frequently side effects is penicillin. Six to seven percent of patients treated with penicillin acuse an allergic event, especially cutaneous.
Taking into consideration the interval of time from the moment the patient was given the drug and the appearance of the side effect, there are three types of adverse reactions to drugs:

1. immediate reaction – which occurs in the fist hour, which is IgE mediated and can be really severe and even life threatening.
2. fastened reactions – which occur in 1-72 hours, are IgE mediated and can be severe, too.
3. delayed ractions – which occur after 72 hours, are IgE independent and aren't lifethreatening.

   The most important clinical manifetations of the allergic reactions to drugs are:

   1) anaphylactic shock
   2) cutaneous manifestations such as: erithema, localised urticaria, erithema multiforme, erythroderma, necrotising angiitis, eczema
   3) infectious-like manifestations
   4) diarrhea
   5) acute encephalopathya
   6) interstitial nephritis
   7) hematological manifestations (hypoprothrombinemia, neutropenia, hemolytic anemia)
   8) Hoigne syndrom
   9) Electrolitic disturbances

Concerning all these and the possible juridical aspects which could appear, the use of any drug, especially antibiotics should be well motivated.

Administrarea oricărui medicament determină, pe lângă efectele dorite (cele pentru care administrăm agentul terapeutic), şi o serie de efecte nedorite, efecte secundare.

Aceste efecte adverse apar la cei mai mulţi dintre pacienţii la care administrăm un anumit medicament, însă de la individ la individ apar diferenţe în ceea ce priveşte manifestările clinice sau biologice ale acestor efecte secundare. Aceste manifestări pot varia de la manifestări subclinice la manifestări clinice extrem de grave (care pot duce la moartea pacienţilor).

Astfel, OMS consideră ca fiind reacţie adversă orice manifestare ce apare la un medicament, manifestare care nu este dorită şi care este dăunătoare organismului, manifestare care apare la dozele terapeutice ale medicamentului respectiv.

Un loc distinct în cadrul reacţiilor adverse îl ocupă reacţiile alergice.

Antibioticele care au în structura chimică nucleul beta- lactamic fac parte din grupa beta-lactamidelor. Principalele antibiotice din acest grup sunt: penicilina, aminopenicilinele, cefalosporinele, carbapenemele, monobactami.

Incidenţa reacţiilor adverse la beta-lactamide este considerată ca fiind în medie de 4% din totalul pacienţilor care au primit o beta- lactamidă.

Factorii predispozanţi cei mai importanţi în apariţia reacţiilor alergice la beta-lactamide sunt: calea de administrare parenterală, o manifestare alergică la beta--lactamide în antecedentele pacientului, pacienţi atopici, factori genetici.

În funcţie de intervalul de timp scurs de la administrarea medicamentului şi apariţia reacţiilor alergice, acestea sunt:

- reacţii imediate care apar în primele 60 de minute de la administrarea beta-lactamidelor. Aceste reacţii sunt IgE dependente şi pot fi foarte severe, uneori ameninţând viaţa pacientului.
- reacţii accelerate care apar în intervalul 1-48 ore de la administrarea medicamentului.
- reacţii întârziate care apar după 72 de ore de la admnistrarea medicamentului.

Manifestările clinice induse de reacţiile alergice la beta-lactamine sunt extrem de variate şi anume:

1) Socul anafilactic - forma majoră gravă se realizează printr-un colaps cardiovascular, care uneori poate duce la decesul bolnavului. În afară de formele majore, pot apărea forme mai puţin grave în care simptomele dominante sunt respiratorii: bronhospasm brutal sau criză de astm bronşic prelungită.
2) Manifestări cutanate ca: eritem morbiliform, scarlatiniform sau mixt, urticaria izolată, eritemul polimorf, eritrodermia, angeita necrozantă, eczema (rarisim) – apar mai frecvent la penicilină decât la beta-lactamide-lactamide. Dar, într-o statistică recentă în cadrul „Boston

collaborative drug surveillance programmne", în care s-au studiat reacţiile cutanate la medicamenate pe 15438 de pacienţi spitalizaţi, s-a obsevat că amoxicilina produce reacţii alergice cutanate în 5% din cazuri, ampicilina în 3,3% din cazuri, în timp ce penicilina G în doar 1,8% din cazuri.

3) Diareea – însoţită de dureri abdominale colicative, impune întreruperea administrarii per os a antibioticului beta-lactamide-lactamic. Rectocolita ulcerohemoragică este forma extrem de gravă a acestei afectări. Ampicilina şi derivaţii săi (inclusiv în asociere cu acidul clavulanic) este agentul etiologic major, dar s-au descris cazuri şi la alte beta-lactamide. Această rectocolită este dată de proliferarea unei şuşe de Clostridium difficile, care secretă o enterotoxină citotoxică şi care clinic se manifestă prin: diaree, dureri abdominale, febră, deshidratare, tulburări electrolitice. Vancomicina orală timp de minim 2 săptămâni constituie tratamentul specific.
4) Encefalopatie acută – apare la administrarea de doze mari (peste 20 mil IU/zi) de benzilpenicilină. Câteva cazuri su fost descrise şi la administrarea de oxacilină, cloxacilină, ticarcilină.
5) Nefrita interstiţială – apare în mod excepţional. În 1983 au fost publicate 10 cazuri de neftrită interstiţială acută după administrarea de penicilină G. Astăzi se consideră că cefalosporinele moderne nu sunt practic toxice renale, dar ele pot creşte nefrotoxicitatea aminoglicozidelor.
6) Manifestări hematologice:

- alterări plachetare: tendinţa la hemoragie este dată de prelungirea izolată a timpului de sângerare. Din punct de vedere fiziopatologic, aceasta se traduce prin scăderea activităţii plachetelor şi a agregabilităţii lor indusă de ADP. În cazul penicilinei G, tendinţa la hemoragie poate apărea în cazul injectării unor doze zilnice foarte mari, peste 40mil UI.

- hipoprotrombinemia apare prin blocarea unei etape hepatice de generare a vitaminei K şi de formare a factorilor vitamino K-dependenţi ai hemostazei. Această hipoprotrombinemie este dependentă de doză. Tratamentul constă în administrarea a 10mg vitamina K, chiar profilactic, în funcţie de valorile timpului de protrombină;

- leuconeutropenie: apare în caz de administrare prelungită, peste trei săptămâni, a unor doze crescute (> 200mil UI) de penicilină G. Aceasta dispare în câteva zile de la întreruperea tratamentului. Mecanismul este imunologic, de formare a unor Ac IgG antipeniciloil;

- anemia hemolitică dată de penicilina G este foarte rară, în 1983 publicându-se 42 de cazuri. Ea apare în cazul unor tratamente îndelungate, de peste două săptămâni, cu doze de peste 20milUI/zi.

De asemenea, a fost descrisă şi apariţia unui sindrom hemolitic-uremic la adult.

7) sindrom Hoigne – pasajul accidental în curentul sanguin a procain-penicilinei G care se administrează intramuscular realizează o reacţie pseudoanafilactică cunoscută sub numele de sindrom Hoigne. Acesta se caracterizează prin manifestări psihotice acute, cu frică de moarte, halucinaţii auditive, mai rar vizuale, agitaţie extremă. Există câteva elemente clinice care permit diferenţierea sindromului Hoigne de şocul anafilactic:
   a. debutul extrem de brutal în timpul sau după injectare;
   b. creşterea TA;
   c. absenţa pruritului, a urticariei, a cianozei, a dispneei, a tulburărilor digestive;
   d. administrarea ulterioară a procainpenicilinei G este bine tolerată. Mecanismul acestui sindrom nu este bine cunoscut: o ischemie cerebrală prin microagregate insolubile sau rolul toxic al procainei. În orice caz, mecanismul imunoalergic este exclus.
8. Perturbări electrolitice – considerăm util de amintit că 1mil UI de benzilpenicilinat de sodiu aduce un aport de 1,7 mmol de sodiu şi aceeaşi doză de săruri de potasiu aduce 1,5 mmol de K.
9. Manifestări pseudoinfecţioase – apar la toate beta-lactamidele, dar extrem de rar. Tabloul clinic este dominat de febră oscilantă, frisoane repetate, stare generală alterată, rush morbiliform, eozinofilie. Întreruperea tratamentului duce la dispariţia în câteva ore a acestei simptoatologii. Se presupune că este incriminată o reacţie RHS tip III.

Diagnosticul reacţiei alergice la beta-lactamide urmează tipicul oricărui diagnostic:
   a. Anamneza minuţioasă, care să stabilească cu precizie relaţia dintre administrarea medicamentului şi apariţia manifestărilor alergice, a intervalului de apariţie a acestora, a antecedentelor personale alergice ale pacientului;
   b. Examenul obiectiv: depistarea uneia dintre manifestările clinice ale alergiei;
   c. Teste cutanate la beta-lactamide (nu se recomandă pacienţilor cu sindrom Steven-Johnson);
   d. Teste radioimunologice (RAST) ce determină prezenţa anticorpilor IgE specifici în sângele bolnavilor.

În general aceste teste sunt indicate atunci când testele cutanate nu se pot efectua.

Tratamentul pacienţilor cu reacţii alergice la beta -lactamide are 3 scopuri:
   1. eliminarea medicamentului incriminat;
   2. tratamentul propriu-zis;
   3. introducerea unei terapii cu aceeaşi acţiune, dar cu structură chimică diferită.

Tratamentul reacţiilor anafilactice este o urgenţă majoră şi are ca obiective:

a. menţinerea permeabilităţii căilor aeriene;
b. menţinerea TA;
c. menţinerea activităţii cardiace.

Medicamentul de elecţie este adrenalina, care va duce la creşterea TA, stimulare cardiacă, bronhodilataţie, reducerea secreţiei bronşice.

Calea de administrare a adrenalinei este subcutanat sau intra-muscular în doze de 0,2-0,5 ml din soluţia de 1mg/ml. În cazul în care după 2-3 administrări de adrenalină subcutanat sau intra-muscular TA nu se stabilizează, se indică administrarea adrenalinei în PEV 1/100000 adrenalină.

Tratamentul colapsului vascular din cadrul şocului anafilactic se face prin admnistrarea unor cantităţi mari de soluţii cristaloide sau coloidale.

Antihistaminicele se administrează simptomatic pentru a atenua/anula simptomele produse de eliberarea mediatorilor în cursul reacţiilor anafilactice. Aceste medicamente se administrează mai ales atunci când apar reacţii cutanate sau angioedem.

Administrarea corticoizilor în cazul reacţiior anafilactice se face de rutină, cu scopul de a inhiba această reacţie alergică în primele faze ale şocului anafilactic, când pe primul plan este prăbuşirea TA (colaps).

Totuşi, corticosteroizii nu reprezintă o medicaţie substitutivă adrenalinei.

În schimb, în cazul angioedemului şi în cazul urticariei, cortizonul reprezintă medicaţia de elecţie. În cazul în care pacientul prezintă bronhospasm se vor administra beta-lactamide-2-agonişti.

În tratamentul reacţiilor alergice cutanate minime, cum ar fi erupţii urticariene sau prurit, se va administra un antihistaminic până la dispariţia simptomelor.

În cazul unei manifestări urticariene cu edem glotic, edem Quincke masiv sau bronhspasm sever, se vor administra antihistaminice, corticoizi (HHC 100-200mg) +/_ adrenalină subcutanat sau intramuscular în funcţie de gravitate.

Tratamentul anemiilor şi trombocitopeniilor cauzate de reacţiile de hipersensibilitate tip II şi III se face cu corticosteroizi în doze moderate, până la corectarea acestora. În cazul în care există şi agranulocitoză, se vor administra şi antibiotice.

Dermita de contact, afecţiune bine individualizată, produsă prin reacţiile de hipersensibilite tip IV, în afară de tratamentul cu corticosteroizi 40-60mg/zi, va beneficia şi de tratamentul local.

Eritemul multiform şi sindromul Stevens-Johnson vor beneficia de antihistaminice şi corticosteroizi; în sindromul Stevens-Johnson, în funcţie de gravitate, se vor adăuga terapie locală, antibiotice, terapie de susţinere generală.

În concluzie, există posibilitatea de a pune în pericol viaţa pacientului în cazul apariţiei unei reacţii alergice severe. Astfel, ori de câte ori există suspiciunea că administrarea unui anumit medicament, în speţă a unei beta-lactamide, ar putea duce la declanşarea unei reacţii alergice, medicul este obligat să investigheze posibilitatea de apariţie a acestei reacţii alergice. Această investigare presupune

efectuarea unor teste care să stabilească sensibilitatea care ar putea duce la apariţia reacţiilor alergice.

Administrarea unui medicament şi apariţia unei reacţii alergice la un pacient cu test pozitiv la acel medicament constituie o culpă medicală.

În cazul penicilinei, în clinică se practică şi testele screening. Valoarea acestor teste este limitată din punct de vedere medical, dar are rol de semnal de alarmă.

Bibliografie

1 BOCHNER B.S., LICHTENSTEIN L.M., Anaphylaxis, New England J. Med., 1991, 324, 1785-1790.

2 GREENBERGER P.A., Drug allergies, In...., Fleisher T.A., Schwartz B.D., Clinical Immunology, Principles and Practice, St. Louis, Mosby Year Book, 1996, 6, 988-998.

3 MCGRATH K.G., Anaphylaxis in alllergic diseases, Diagnosis and management, Ed. Roy Patterson, Philadelphia – New York, 1997, 20, 439-459.

4 BEKER A., LORRAINE C., Notion sur les allergies, Abeille de France, 1999, 88, 84-95.

5 ADAMS, L.E., HESS E.V., Drug-related lupus, drug-safety, 1991, 6, 431-449.

6 PATTERSON R., CHERIYAN S., Stevens-Johnson syndrome and erythema, In:Allergic Disease, 5-th Edition, Eds. R. Patterson and I.C. Grammer P.A., Greenberger, Ed. Lippincott Raven Pub., Philadelphia, 1997, 16, 311-317.

7 ALECU M., ALECU SILVIA, Reacţii alergice la medicamente, Ed. Medicală, Buc., 2002, 103-119, 230-254, 273-286.

VI. REZISTENȚA BACTERIANĂ LA CHIMIOTERAPIE

MONITORIZAREA REZISTENTEI DOBANDITE LA ANTIBIOTICE A TULPINILOR MICROBIENE CU POTENȚIAL NOSOCOMIAL IZOLATE ÎN SECȚII DE TERAPIE INTENSIVĂ

Rodica Cinca[1], Roxana Moldovan[2], Monica Licker[2], Adelina Tudor[1], Ioana Ana[1], Ioana Malita[1], D. Ana[1]
[1] *Disciplina de Farmacologie, UMF "Victor Babeş", Timişoara*
[2] *Disciplina de Microbiologie, UMF "Victor Babeş", Timişoara*

Abstract
We isolated 133 of potential nosocomial strains from a total number of 198 samples taken from an intensive care adults unit. These strains were: *Staphylococcus aureus* (46 strains), *Staphylococcus*, coagulase negative (25 strains), *Escherichia coli* (17 strains), *Klebsiella spp.* (27 strains), *Pseudomonas spp.* (6 strains), etc.
Bacteria's identification was made by automatic API method, and sensitivity to chemotherapies was tested through the automatic method mentioned before and through Kirby Bauer technique.
Analitical study of sensitivity tests divided bacterias in resistance phenotypes. There were 22 strains of MRSA (meticillin-resistent *S. aureus*), 19 strains of MRCNS (meticillin-resistent coagulase negative *Staphylococcus*), 1 1 enterobateria producing ESBL (extended spectrum beta-lactamases).
Analysis of the resistance phenotypes described above evidences hospital bacteria strains with multiple resistance to several antibiotics. This is why we strongly recommend a correct policy of antibiotics in hospitals.

Pacienții internați în secții de ATI prezintă un risc mediu de a contacta infecții nosocomiale, de 9,2 infecții/100 pacienți externați din secții de ATI, sau 23,7 infecții/1000 pacienți-zile.

Riscul crescut este asociat cu:

- Severitatea afecțiunii pacientului;
- Gradul expunerii la dispozitive şi proceduri invazive;

- Contactul îndelungat al pacientului cu personalul medical de îngrijire;
- Durata spitalizării în secţii de ATI;
- Frecvenţa crizelor;
- Caracteristici speciale ale mediului (de ex. spaţiu limitat).

A. Factori legaţi de gazdă - asociaţi cu susceptibilitatea crescută la infecţii (Grundmann şi colab., 2002)

- Alterări ale factorilor de apărare ale gazdei:
  - genetice (agamaglobulinemia);
  - dobândite (traume severe);
  - secundare unei afecţiuni primare (tulburări circulatorii în diabetul zaharat, tulburări respiratorii în bronhopneumopatia cronică obstructivă);
  - iatrogene (imunosupresoarele, terapia cu steroizi).
- Susceptibilitatea la infecţii este influenţată de severitatea bolii primare.
- Pacienţii din secţii de ATI pot fi colonizaţi mai uşor cu germeni de spital, datorită modificărilor apărute în apărarea organismului (sistemul imun):
  - colonizarea are loc cu germeni de spital deseori rezistenţi la antibiotice;
  - pacienţii pot fi expuşi unui număr crescut de microorganisme, ca urmare a utilizării îndelungate a dispozitivelor invazive.

B. Efectul măsurilor terapeutice asupra riscului infecţios

- Dispozitive medicale:
  a. Dispozitive şi linii invazive multiple;
  b. Dispozitivele respiratorii.
- Soluţii medicamentoase.

Flacoanele medicamentoase, sau alte soluţii utilizate pentru umplerea rezervoarelor echipamentelor de terapie respiratorie, atunci când sunt deschise pot fi contaminate şi pot servi ca sursă de germeni microbieni.

C. Factori de mediu care influenţează riscul infecţios:

1. Spaţiul;
2. Spălarea mâinilor;
3. Prepararea soluţiilor medicamentoase;
4. Pregătirea dispozitivelor medicale;
5. Depozitarea inadecvată a echipamentului contaminat şi curat;
6. Microorganisme multirezistente la antibiotice;
7. Măsuri de izolare a bolnavilor, aplicarea barierelor tehnice.

Material şi metodă

În perioada noiembrie 2001-ianuarie 2002 am recoltat un număr de 198 produse patologice provenind de la pacienţi internaţi în secţia de terapie intensivă a Spitalului Clinic Judeţean nr. 1, Timişoara în scopul evidenţierii colonizării şi respectiv infecţiei acestora cu germeni cu potenţial nosocomial.

Pentru evidenţierea colonizării cu germeni de spital a fost luat în studiu un lot de pacienţi cu o durată a spitalizării de peste 5 zile şi supuşi unor proceduri invazive multiple. De la aceştia s-au recoltat probe (exudate nazale, faringiene, perineale) atât la internare cât şi la externare (tabel 1).

În scopul evidenţierii infecţiei, produsele patologice au fost recoltate în

funcţie de simptomatologia clinică.

Identificarea germenilor şi testarea sensibilităţii germenilor s-a efectuat conform normelor NCCLS (Mackenzie şi colab., 1995), prin metoda API (diluţii în agar), dar pentru antibiograme am folosit în paralel şi metoda difuzimetrică clasică Kirby Bauer cu incubare la 35 şi respectiv 37°C pentru evidenţierea rezistenţei la meticilină a stafilococilor şi respectiv prin efectuarea testului specific de sinergie pentru evidenţierea tulpinilor de bacili gram negativi producători de BLSE (Qadri şi colab., 1994).

Tabel 1. Produse patologice recoltate în secţia de ATI

Produs patologic	*Număr*	*Procent*
Exudat faringian	26	13,1
Exudat nazal	65	32,8
Urina	29	14,6
Exudat perineal	27	13,6
Aspirat bronşic	34	17,2
Lichid pleural	3	1,5
Cateter	7	3,5
Secreţie plagă	3	1,5
LCR	2	1,0
Lichid ascită	1	0,5
Sputa	1	0,5
Total	198	100

Prin citirea interpretativă a antibiogramelor s-a efectuat ulterior încadrarea germenilor în fenotipuri de rezistenţă.

Rezultate şi discuţii

Din cele 198 produse am izolat un număr de 133 tulpini cu potenţial nosocomial (tabel 2).

Tabel 2. Germeni cu potenţial nosocomial izolaţi din secţia de ATI

Germeni	**Număr**	**Procent**
Staphylococcus aureus	46	34,58
Stafilococi coagulazo-negativi	25	18,79
Escherichia coli	17	12,78
Klebsiella pneumoniae spp.	17	12,78
Klebsiella oxytoca	8	6,01
Klebsiella ornithynolitica	2	1,50
Enterobacter cloacae	1	0,75
Proteus mirabilis	3	2,25
Serratia odorifera	2	1,50
Serratia marcescens	2	1,50
Pseudomonas aeruginosa	6	4,51
Pseudomonas putida	1	0,75
Acinetobacter baumanii	2	1,50
Shigella sonnei	1	0,75
Total	**133**	**100**

Studiul fenotipurilor de rezistenţă a relevat următoarele aspecte:
Dintre cocii gram pozitivi am remarcat prezenţa a **22 tulpini de MRSA şi 19 tulpini de MRCNS**, majoritatea au fost izolaţi din exudate nazale şi faringiene ale pacienţilor la externare, deci sunt germeni cu potenţial nosocomial latent (tabele 3, 4, 5 şi 6).

Tabel 3. Fenotipuri de rezistenţă dobândită la tulpinile MRSA

Produs patologic	**Număr**	**Procent**
Exudat nazal	16	72,72
Exudat faringian	3	13,63
Exudat perineal	2	9,09
Aspirat bronşic	1	4,54
Total	22	100

Tabel 4. Fenotipuri de rezistenţă dobândită la tulpinile MRCNS

Produs patologic	**Număr**	**Procent**
Exudat nazal	10	52,63
Exudat faringian	3	15,78
Exudat perineal	5	26,31
Aspirat bronşic	1	5,26
Total	19	100

Tabel 5: Fenotipuri de rezistenţă dobândită la germenii producători de BLSE

Nr.crt	Produs patologic	Specia	Fenotip
1.	Aspirat bronşic	*K.pneumoniae spp.pneumoniae*	BLSE, tulpină multirezistentă
2.	Aspirat bronşic	*K.pneumoniae spp.pneumoniae*	BLSE, tulpină multirezistentă
3.	Aspirat bronşic	*K.pneumoniae spp.pneumoniae*	BLSE, tulpină multirezistentă
4.	Aspirat bronşic	*E.coli*	BLSE, tulpină multirezistentă
5.	Exudat nazal	*K.oxytoca*	BLSE, Gn
6.	Exudat nazal	*K.pneumoniae spp.pneumoniae*	BLSE, tulpină multirezistentă
7.	Exudat nazal	*K.pneumoniae spp.pneumoniae*	BLSE, tulpină multirezistentă
8.	Exudat perineal	*E.coli*	BLSE, tulpină multirezistentă
9.	Exudat perineal	*E.coli*	BLSE, Gn,Q
10.	Exudat perineal	*Klebsiella ornithynolitica*	BLSE, Gn
11.	Exudat perineal	*K.pneumoniae spp.pneumoniae*	BLSE, tulpină multirezistentă

Tabel 6. Pneumonii nosocomiale produse de MRSA, MRCNS, BLSE

Germeni	Număr	Procent
MRSA	1	16,66
MRCNS	1	16,66
BLSE	4	66,66
Total	6	100

Concluzii

- Analizând fenotipurile de rezistență descrise, se remarcă prezența unor tulpini cu rezistență multiplă, la aproape toate antibioticele, tulpini care odată apărute se vor selecta în mod sigur sub presiunea selectivă a antibioticelor şi se vor transforma în populații (Shopsin şi colab., 2000).
- Potențialul nosocomial clinic al acestor tulpini s-a concretizat în cele 6 bronhopneumonii nosocomiale, toate semnalate la pacienți cu spitalizare îndelungată care beneficiau de respirație asistată.
- Potențialul nosocomial latent a fost evaluat prin colonizarea nefiziologică a pacienților cu tulpini multirezistente la antibiotice (MRSA, MRCNS, BLSE).
- Interpretarea analitică a antibiogramei trebuie să facă parte din preocupările bacteriologului:
  - este o condiție necesară pentru a putea trimite clinicianului un rezultat pertinent şi fiabil de care acesta va trebui să țină cont;
  - importanța sa se reflectă şi în reducerea costurilor pe care spitalele le alocă anual consumului de antibiotice.
- Tocmai de aceea considerăm că o politică a antibioticelor este necesară întrucât:
  - va ridica nivelul îngrijirii pacienților prin utilizarea judicioasă a antibioticelor în scop profilactic şi terapeutic;
  - va întârzia apariția situațiilor de urgență cu rezistență bacteriană multiplă față de antibiotice;
  - va completa gradul e educare profesională al medicilor tineri;
  - va determina o utilizare mai bună a banilor.
- În acest sens considerăm necesară crearea un comitet al antibioticelor în spitale, care va fi responsabil de redactarea şi supravegherea unei politici a antibioticului.

Sarcinile generale ale comitetului antibioticelor ar fi următoarele:

- să furnizeze linii directoare pentru utilizarea antibioticelor. Aceasta va conduce la elaborarea unui formular de lucru care va reuni un număr minim de agenți farmacologici necesari, pentru o terapie cât mai eficientă. Se va decide, de asemenea, dacă starea prezentă a unui pacient necesită sau nu utilizarea unui antibiotic;

- să evalueze şi să raporteze fenotipurile de rezistență din diferitele departamente clinice, la consumul de antibiotice al secției respective şi în funcție de rezultate să întocmească acele "liste negre" de antibiotice, care vor trebui evitate pe o perioadă mai îndelungată de timp, până la normalizarea situației;

- să stabilească un formular al medicamentului (după consultarea completă a personalului clinicii);
- să formuleze liniile directoare în profilaxia şi terapia infecţiilor;
- să crească responsabilitatea pentru educare şi pentru răspândirea informaţiilor specifice;
- să conlucreze strâns cu echipa de control a infecţiilor de spital.

Toate aceste linii directoare vor fi materializate în materiale publicate, după o consultare largă şi după obţinerea unui consens în cadrul spitalului.

➢ Următoarele persoane cheie ar trebui incluse în Comitet:
- Farmacistul;
- Microbiologul;
- Medicii clinicieni şi asistentele medicale;
- Directorul administrativ;
- Alţi membrii, care vor funcţiona între comitetul de control al infecţiilor şi comitetul medicamentelor.

Comitetul antibioticelor va lua hotărâri raţionale în ceea ce priveşte "chimioterapicele echivalente" şi privitor la selectarea acelor clase de droguri care au o eficienţă maximă la un preţ cât mai mic. Alegerea chimioterapicului va fi dictată de preţ, dacă proprietăţile microbiologice, farmacologice şi alte proprietăţi relevante sunt similare.

➢ Nu dorim să încheiem această lucrare fără a insista din nou asupra necesităţii muncii în echipă. Clinicienii, farmacologii, microbiologii, epidemiologii, farmaciştii, economiştii din spitale nu vor obţine rezultate performante în munca lor, decât printr-o conlucrare permanentă, benefică fiecăruia în parte, dar mai ales pacienţilor noştri.

Bibliografie

1. GRUNDMANN H., HORI S., WINTER B., TAMI A., and AUSTIN D. J., Risk Factors for the Transmission of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in an Adult Intensive Care Unit: Fitting a Model to the Data, The Journal of Infectious Diseases, 2002, 185, 481-488
2. MACKENZIE A.M., RICHARDSON H., LANNIGAN R. and WOOD D., Evidence that the National Committee for Clinical Laboratory Standards disk test is less sensitive than the screen plate for detection of low- expression-class methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, Journal of Clinical Microbiology, 1995, 33, 1909-1911
3. QADRI S.M., UENO Y., IMAMBACCUS H. and ALMODOVAR E., Rapid detection of methicillin-resistant Staphylococcus aureus by Crystal MRSA ID System, Journal of Clinical Microbiology, 1994, 32, 1830-1832
4. SHOPSIN B., MATHEMA B., MARTINEZ J., HA E., CAMPO M. L., FIERMAN A., KRASINSKI K., KORNBLUM J., ALCABES P., WADDINGTON M., RIEHMAN M., and KREISWIRTH B. N., Prevalence of Methicillin-Resistant and Methicillin-Susceptible *Staphylococcus aureus* in the Community, The Journal of Infectious Diseases, 2000;182:359-362

SISTEM DE SUPRAVEGHERE EPIDEMIOLOGICĂ A REZISTENȚEI MICROBIENE LA CHIMIOTERAPICE ŞI IMPLICAȚII ÎN CONTROLUL INFECȚIILOR NOSOCOMIALE ÎN SECTOARE CLINICE CU RISC ÎNALT

F. Paul*, V. Ordeanu**
*Direcția Asistență Medicală a M.Ap.N
**Centul de Cercetari Ştiințifice Medico-Militare

Abstract
We have achieved a computerised epidemiological supervenience system of the microbic resistance to antimicrobial substances based on the bacterium flora from the nosocomial infections (IN).
We have analysed its implications in the IN control in the clinical high risk wards in a huge hospital:
-at hospital level the supervenience, preventing and control activity on the IN takes place sporadically;
-there is no report system of the IN;
-at clinical wards level antibiotic therapy takes place without analysing the microbiological tests befor;
-antibiotic treatment for diagnostic and the tretment of severe infections takes place only in outstanding situations.
The conclusions are useful for the improving of the IN program.

Introducere

Infecțiile nosocomiale au fost şi vor rămâne o problemă importantă a hospitalismului, fiind implicate în creşterea morbidității şi mortalității, influențând considerabil costurile actului medical.

Astfel, în S.U.A. infecțiile nosocomiale sunt înregistrate la aproximativ 2 milioane de pacienți anual, ceea ce reprezintă o rată medie anuală de 8% din totalul spitalizărilor, cu variații între 4,3 şi 15%. Tot în Statele Unite se raportează că în urma efectelor adverse spitalizării, care includ şi infecțiile nosocomiale, se înregistrează anual între 44 000 şi 98 000 de decese, cu un cost între 17 şi 29 miliarde de dolari.

În Europa incidența infecțiilor nosocomiale variază între 6 şi 11 % . În Spania, de exemplu, este raportată o prevalență de 7% a infecțiilor nosocomiale între 1994-1999; în Franța în anul 1996 un studiu la nivel național identifică o prevalență de 6,7%, iar în Elveția prevalența infecțiilor nosocomiale este de 10,4%.

În Romania prevalența infecțiilor nosocomiale se încadrează în valorile

publicate în lume. Un studiu efectuat în 1995 identifică o rată medie a infecţiilor nosocomiale de 7,8%, cu variaţii între 3,1 şi 16,4%, în funcţie de profilul serviciului şi al spitalului.

Factorul considerat major în cauzalitatea infecţiilor nosocomiale este apariţia unei populaţii microbiene de spital, selecţionată, rezistentă la acţiunea substanţelor antimicrobiene. Este unanim recunoscut că antibioticele exercită un efect presor selectiv asupra agenţilor microbieni, ceea ce duce la apariţia în mediul spitalicesc a unor tulpini bacteriene rezistente şi multirezistente care colonizează bolnavii şi care pot genera infecţii grave care influenţează, de multe ori decisiv şi chiar dramatic, evoluţia bolnavilor.

La acesta se adaugă factorii favorizanţi care ţin de particularităţile pacientului: patologie asociată, tratamente imunosupresoare; complexitatea manevrelor medicale aplicate; caracteristicile organizatorice şi funcţionale ale serviciului medical şi ale spitalului, nivelul de instruire a personalului medical şi auxiliar.

Apariţia şi extinderea tulpinilor de stafilococi aurii rezistenţi la meticilină, a tulpinilor de klebsiele producătoare de betalactamaze cu spectru lărgit, dezvoltarea într-un ritm rapid a rezistenţei enterococilor la vancomicină şi a pneumococilor şi neiseriilor la penicilină sau apariţia în ultimii ani a tulpinilor de stafilococ auriu rezistent la vancomicină, reprezintă tot atâtea probleme importante cu care se confruntă clinicienii, epidemiologii, producătorii de medicamente şi nu în ultimul rând, pacienţii.

Dezvoltarea şi extinderea tehnicilor şi manevrelor invazive de diagnostic şi tratament au adus, pe lângă creşterea randamentului şi acurateţei actului medical, şi noi aspecte ale infecţiilor nosocomiale. Cateterismele endovenoase, chirurgia cardiovasculară au adus în atenţia medicilor infecţiile nosocomiale cu stafilococ epidermidis. Infecţiile tractului urinar post cateterism vezical reprezintă cele mai frecvente infecţii nosocomiale iar enterobacteriaceele, dintre care se evidenţiază *Escherichia coli* sunt agenţii etiologici cel mai frecvent incriminaţi şi care prezintă rezistenţă şi multirezistenţă la antibiotice.

Terapia cu antibiotice este considerată cauza principală a apariţiei şi dezvoltării rezistenţei microbiene. Utilizarea nerațională a antibioticelor, administrarea lor "nediscriminatorie", profilaxia excesivă a infecţiilor cu antimicrobiene, tratamentul unor afecţiuni infecţioase cu etiologie alta decât cea bacteriană sunt tot atâtea condiţii favorizante pentru dezvoltarea rezistenţei microbiene la antibiotice.

Toate aceste aspecte constituie motive importante de a analiza evoluţia infecţiilor nosocomiale în orice instituţie medicală.

Considerând problema extrem de importantă atât pentru evoluţia bolnavilor cât şi pentru eficienţa actului medical, am considerat utilă analiza aspectului rezistenţei microbiene la antibiotice ca un criteriu definitor al evoluţiei infecţiilor nosocomiale înt-o unitate spitalicească.

Supravegherea, prevenirea şi controlul infectiilor nosocomiale

În ţările anglosaxone infecţiile nosocomiale (IN) sunt superpozabile conceptului de *"hospitalism infecţios"* care include şi influenţa spitalizării asupra psihicului bolnavului.

Autorii francezi şi americani delimitează conceptul la "infecţia dobândită în urma spitalizării sau manevrelor diagnostice şi terapeutice care nu era clinic manifestă şi nici în incubaţie la momentul internării sau începerii asistării medicale".

În România conceptul de infecţie nosocomială a cunoscut mai multe formulări. Cea mai actuală se regăseşte în actul normativ emis de Ministerul Sănătăţii, Ord. M.S. nr. 984/1994 care reglementează activitatea de supraveghere şi control a IN. Infecţia nosocomială este definită *"infecţia contractată în spital sau alte unităţi sanitare cu paturi" şi se referă la orice boală ce poate fi recunoscută clinic sau microbiologic, care afectează fie bolnavul datorită internării lui în spital sau îngrijirilor primite, fie ca pacient spitalizat sau în tratament ambulatoriu, fie personalul sanitar datorită activităţii sale, indiferent dacă simptomele bolii apar sau nu în timp ce persoana respectivă se află în spital".*

Infecţia nosocomială este o entitate clinică complexă care include diagnosticul de infecţie corelată şi depenedentă de spitalizare, actul medical suportat de pacient şi elemente care ţin de condiţiile hospitalismului modern. Definirea şi încadrarea nosologică a infecţiilor nosocomiale sunt un proces complex, dinamic şi care, pentru a fi eficiente, trebuie să întrunească sufragiul general al medicilor, al managerilor de spital şi al organizatorilor de sănătate publică.

Procesul epidemiologic al IN este constituit din sursa de infecţie, calea şi modul de transmitere şi masa receptivă.

Agenţii etiologici ai IN sunt toate microorganismele care pot declanşa procese patologice la nivelul organismului şi care, prin mecanisme variate, ajung la nivelul organismului.

Supravegherea, controlul şi profilaxia IN se constituie într-un proces complex, care trebuie să angajeze medicii curanţi, managerii de sănătate şi epidemiologii. La baza acestor activităţi se află diagnosticarea şi identificarea activă a IN, aplicarea unor măsuri eficiente şi adaptate fiecărei unităţi spitaliceşti în parte.

Material şi metodă

Obiective urmărite

În studiul efectuat s-a plecat de la ipoteza că *infecţiile nosocomiale sunt o componentă a hospitalismului modern* şi că ele, prin complexitatea etiopatogenică, a diagnosticului, a tratamentului, a impactului asupra bolnavilor dar şi asupra costului actului medical, reflectă direct şi indirect profesionalismul actului medical şi al îngrijirii bolnavului, acurateţea tuturor manevrelor medicale, starea generală de igienă şi de sanitaţie a unei unităţi spitaliceşti, modul în care sunt percepute, înţelese, acceptate şi respectate principiile şi normele care stau la baza prevenirii şi controlului infecţiilor nosocomiale într-o unitate sanitară cu paturi.

Un alt punct de plecare în studiul nostru este acela al *responsabilităţii infecţiilor nosocomiale.* Considerate de cea mai mare parte a medicilor clinicieni ca fiind în responsabilitatea epidemiologilor, a personalului mediu şi auxiliar, infecţiile nosocomiale sunt de cele mai multe ori ignorate, mai ales atunci când frecvenţa şi gravitatea lor nu influenţează evident sau dramatic evoluţia pacienţilor.

Readucerea în faţa medicului clinician, direct implicat în actul medical, a

responsabilității infecției nosocomiale este cea mai eficientă metodă de a controla și reduce incidența acestei entități, cu condiția de-a oferi acestuia instrumentele necesare pentru diagnostic, tratament și profilaxie.

Deoarece la nivelul spitalului luat în studiu nu se desfășoară o activitate constantă, organizată, de prevenire și control a infecțiilor nosocomiale, am stabilit pentru studiul nostru următoarele obiective:

- stabilirea principalelor specii microbiene izolate și identificate în spital;
- stabilirea profilului rezistenței la antibiotice a tulpinilor microbiene izolate și identificate în spital;
- identificarea pe baza rezultatelor acumulate a principalelor secții cu risc înalt pentru infecțiile nosocomiale;
- evaluarea stării de igienă și sanitație, a modului în care se execută dezinfecția și sterilizarea într-unul din serviciile identificate anterior ca fiind cu risc crescut pentru infecțiile nosocomiale;
- elaborarea de propuneri și recomandări pentru îmbunătățirea activității de supraveghere și prevenire a infecțiilor nosocomiale;
- realizarea unei aplicații computerizate pentru stocarea și prelucrarea datelor obținute în urma utilizării ghidului pentru controlul infecțiilor nosocomiale.

Material utilizat

Caracteristicile generale ale unității spitalicești.

Ancheta epidemiologică a fost efectuată într-un spital cu peste 500 de paturi, cu structură multipavilionară.

Activitatea acestei unități sanitare acoperă aproape întreaga gamă a serviciilor medicale, mai puțin asistența medicală pediatrică și cea de obstetrică; nu se află în incinta spitalului secția de boli transmisibile care funcționează în structura spitalului orășenesc de boli infecțioase.

Spitalul asigură asistență medicală curativă, dar îndeplinește, mai ales prin serviciile chirurgical și boli interne, și rolul de spital de urgență, fiind internate urgențe chirurgicale, traumatologice și medicale.

În structura spitalului se remarcă pavilionul chirurgical în care își desfășoară activitatea secții de chirurgie generală, traumatologie, ORL, oftalmologie, chirurgie buco-maxilo-facială, neurochirurgie.

Circuitele acestui pavilion permit accesul ușor atât al personalului medical, cât și al vizitatorilor în sectoare cu risc crescut cum ar fi blocul operator, saloanele post-operator.

Fiecare serviciu are bloc chirurgical propriu, cu toate anexele necesare; sălile chirurgicale pentru intervenții septice sau de mică chirurgie sunt situate în afara blocului chirurgical.

Serviciile de urologie și ginecologie se află într-un pavilion separat și utilizează un bloc operator comun.

Serviciile cu profil medical sunt situate în pavilioane separate.

Laboratoarele spitalului sunt dispuse într-un pavilion separat, transportul

probelor patologice fiind efectuat de asistentele medicale sau infirmiere, în condiţii de securitate, cu un risc minor de contaminare a mediului.

Explorările paraclinice se efectuează în servicii specializate: radiologie şi serviciul de explorări funcţionale, unde se execută electrocardiograme, echografii, explorări funcţionale respiratorii etc.

În structura spitalului funcţionează şi un ambulator de specialitate care asigură asistenţa medicală de specialitate pentru cabinetele medicilor de familie, dispensarizarea bolnavilor cronici; tot în acest serviciu se efectuează vizite medicale periodice, examinări medicale diverse.

Spitalul are în structura sa un bloc alimentar, situat într-un pavilion separat, unde se prepară hrana bolnavilor. Sunt respectate normele igienico-sanitare de preparare şi transport al hranei la secţiile cu paturi. În fiecare secţie se află o sală cu mese pentru bolnavii deplasabili.

Spălarea lenjeriei de spital este realizată în spălătoria proprie. Aici sunt circuite separate pentru lenjeria de spital şi efectele bolnavilor şi alte circuite pentru celelalte materiale. Sunt respectate circuitele specifice fiecărui tip de lenjerie.

Sterilizarea instrumentarului şi a materialului moale se realizează în staţia centrală de sterilizare unde sunt executate sterilizarea prin abur sub presiune sau sterilizarea prin căldură uscată. La nivelul fiecărei secţii există sterilizatoare rapide, de mici dimensiuni şi pupinele utilizate în urgenţă.

Sterilizarea sondelor, a cateterelor, a întregului instrumentar şi materialelor care nu suportă expunerea la temperaturi ridicate, se realizează cu etilen-oxid.

Deşeurile menajere sunt colectate în pubele cu destinaţie bine stabilită; deşeurile contaminate cu produse patologice sunt incinerate în crematoriul spitalului.

În curtea spitalului funcţionează independent Laboratorul de medicină preventivă care, semestrial, efectuează teste de salubritate în serviciile şi compartimentele spitalului, fără a fi implicat în supravegherea şi controlul infecţiilor nosocomiale. La solicitare, acest laborator execută controlul microbiologic al mediului în spital, controlul eficienţei sterilizării instrumentarului, apei şi al eficienţei acţiunilor de dezinfecţie.

Circuitele pacienţilor în spital sunt respectate, dar pacienţii se intersectează unii cu alţii la serviciul de radiologie şi la cel de explorări funcţionale. Mai pot exista intersectări ale pacienţilor la consultul intersecţii.

Caracteristicile lotului studiat şi parametrii studiaţi

În vederea stabilirii principalelor specii bacteriene izolate şi identificate în spital şi pentru stabilirea profilului rezistenţei acestora la antibiotice am utilizat ca sursă de informaţie banca de date a laboratorului de microbiologie al spitalului din care am extras rezultatele culturilor microbiene şi antibiogramele din anii 1993, 1996, 1999.

Laboratorul de microbiologie îşi desfăşoară activitatea în cadrul laboratorului central al spitalului şi este încadrat cu un medic de specialitate şi o asistentă medicală de laborator.

Metoda de lucru utilizată în laborator este în momentul de faţă o metodă

automatizată. Din anul 1995 laboratorul a fost dotat cu un echipament MiniAPI – BioMerieux.

Cu toate acestea, din motive de aprovizionare şi resurse financiare ale spitalului, echipamentul nu este utilizat la întreaga sa capacitate şi performanţă. Absenţa galeriilor specifice pentru examenele biochimice, a galeriilor standardizate pentru antibiogramă, face ca de multe ori una din etapele diagnosticului microbiologic să fie executată automatizat, iar altele manual, conform procedurilor clasice.

Una din problemele care ne-a împiedicat în aprofundarea anchetei epidemiologice este aceea a absenţei caracterizării fenotipice a tulpinilor bacteriene izolate şi identificate în spital. Această metodă este extrem de importantă în supravegherea tulpinilor circulante în spital, în stabilirea filiaţiei cazurilor.

Un alt inconvenient întâlnit în studiul nostru a fost acela al identificării caracteristicilor microcomprimatelor pentru antibiograme. Acest lucru se explică prin utilizarea mai multor furnizori de microcomprimate şi utilizarea unor microcomprimate cu concentraţii diferite, ceea ce duce inevitabil la rezultate care pot fi contradictorii.

Consider extrem de importantă această "particularitate" deoarece ea influenţează decisiv tratamentul cu antibiotice în spital.

Până în anul 1995 laboratorul a folosit metoda antibiogramei difuzimetrice, utilizând seturile de microcomprimate furnizate de Intreprinderea de Medicamente Bucureşti şi Labormed, şi biodiscuri produse de firma Oxoid şi de BioMerieux – Pasteur.

Un alt element important este acela legat de controlul calităţii în cadrul laboratorului. Numai sporadic sunt efectuate teste pe tulpini standardizate, mai ales la introducerea în lucru a unor discuri provenite de la furnizori noi sau când sunt introduse în practică seturi de discuri aflate la limita valabilităţii.

Pentru evaluarea stării igienico-sanitare în spital am utilizat banca de date a Laboratorului de medicină preventivă din care am extras următoarele date:

- încărcătura microbiană a suprafeţelor (TIS);
- încărcătura microbiană a aerului din sălile de operaţie, saloane etc. (aeromicroflora);
- testele pentru verificarea presterilizării şi sterilizării instrumentarului şi a meterialului moale (teste Adler şi sterilităţi);
- portajul de germeni la personalul medical din blocurile chirurgicale.

Interpretarea rezultatelor s-a făcut conform normelor prevăzute în Ordinul Ministrului Sănătăţii nr. 984/1994.

Metoda de lucru

Metoda de lucru aleasă pentru realizarea obiectivelor propuse este aceea a *anchetei epidemiologice analitice, de tip descriptiv.*

Am ales această metodă pentru *avantajele* pe care le oferă, fără a ignora

însă dezavantajele ei. *Avantajele* sunt:

- durata relativ scurtă a studiului;
- numărul de subiecți investigați este variabil, în funcție de oferta băncii de date și de relevanța lor în ansablul întregului studiu;
- permite includerea în studiu a evenimentelor rare care, în alte circumstanțe nu ar putea fi interpretate statistic;
- cercetarea băncii de date poate fi reluată, cu analizarea și a altor variabile sau cu aprofundarea investigației, dacă datele obținute oferă posibilitatea formulării de ipoteze noi;
- prețul de cost este scăzut.

Dezavantajele cu care ne-am confruntat au fost, unele dintre ele majore, altele mai puțin importante în ansablul întregului studiu:

- documentele medicale consultate au fost în unele situații incomplete sau chiar discordante din punct de vedere al acurateței datelor înscrise sau al informațiilor oferite;
- nu am putut constitui întotdeauna un lot martor acceptabil; am fost nevoit să fac intercompararea rezultatelor prin crearea unor loturi considerate martor în funcție de existența sau nu a unei variabile sau a unui factor de risc prezent în lotul analizat;
- nu am putut interveni în corectarea unor erori de înregistrare sau în reluarea unor investigații de laborator atunci când informațiile obținute nu au fost complete sau au fost chiar confuze;
- nu am putut interveni direct în măsurarea datelor.

Din motivele expuse mai sus, în prelucrarea datelor obținute ne-am limitat la *estimarea prin metode matematice a riscurilor* și la interpretarea lor statistică, cu respectarea criteriilor unanim acceptate de confidență $p< 0,05$.

Rezultate și discuții

Din 18 624 de culturi microbiene luate în studiu, 15 731 au fost însoțite de antibiogramă. Dintre acestea au corespuns criteriilor de introducere în studiu 14 368 antibiograme dintre care 2091 au fost examene repetate aceluiași pacient, pentru confirmarea diagnosticului sau pentru evaluarea tratamentului antibiotic.

În final am selecționat 12 277 antibiograme.

Principalele specii izolate și identificate în cei trei ani luați în studiu sunt (în paranteză tulpinile izolate în anul 1999): *Staphylococcus aureus* 1073 (397) tulpini, *Staphylococcus epidermidis* 1261 (305) tulpini, *Streptococcus pneumoniae* 212 (43) tulpini, *Escherichia coli* 3861 (1259) tulpini, *Enterobacter cloacae* 916 (241) tulpini, *Klebsiella pneumoniae* 1179 (377) tulpini, *Proteus mirabilis* 358 (116) tulpini, *Pseudomonas aeruginosa* 971 (319) tulpini (Tabelul nr. 1).

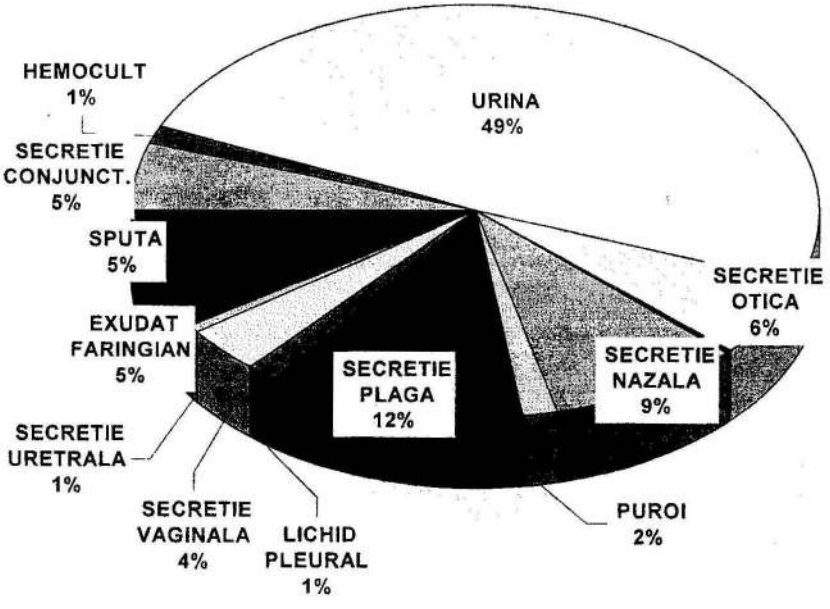
Analiza distribuției speciilor bacteriene în funcție de prelevat relevă aspecte interesante: în prelevatul "*secreție tub de dren*" piocianicul reprezintă 41% din totalul tulpinilor izolate și identificate; în *hemoculturi* ponderea stafilococilori, auriu și epidermidis este de 46%, în prelevatul "*secreție plagă*" ponderea cea mai mare o are

stafilococul auriu, 26%, staf. epidermidis 21% iar piocianicul 16% etc. În *urocultură* colibacilul reprezintă 54%, enterobacter 14%, klebsielele 10% etc.

Tabelul nr 1. Principalele specii bacteriene izolate şi identificate

AGENT INFECŢIOS	*Global*	*1999*
Staphylococcus aureus	*1073*	*397*
Staphylococcus epidermidis	*1261*	*305*
Streptococcus spp.	*462*	*193*
Streptococus pneumoniae	*212*	*43*
Escherichia coli	*3816*	*1259*
Enterobacter cloacae	*916*	*241*
Klebsiella pneumoniae	*1179*	*377*
Acinetobacter spp.	*275*	*82*
Proteus mirabilis	*358*	*116*
Pseudomonas aeruginosa	*971*	*319*
Alţi germeni	*1754*	*336*
Total	*12277*	*3668*

Prelevatele cel mai frecvent trimise la laborator sunt: *urina*-49%, *secreţie plagă*-12%, *secreţie nazală*-9%, *exudat faringian*-5%, *sângele pentru hemocultură*-1% (Graficul nr. 1).

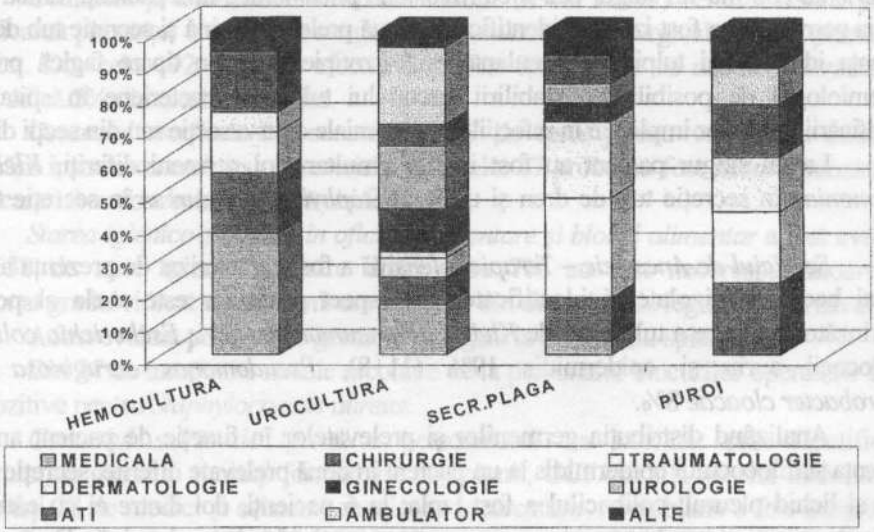


Graficul nr. 1. Produsele biologice analizate în laboratorul de microbiologie

Se remarcă ponderea mare a prelevatului *urină*, 49% din totalul prelevatelor.

Prelevatele *secreție plagă* și *puroi*, presupuse a fi provenite și de la bolnavi cu infecții nosocomiale reprezintă 14%.

Analizând proveniența prelevatelor în funcție de secție am observat că prelevatele *secreție plagă* și *puroi* sunt cel mai des solicitate de *serviciul de traumatologie*. *Servicul de traumatologie* trimite spre examinare microbiologică 37% din prelevatul *secreție plagă*, urmat pe locul al doilea de *serviciul de dermatologie*, dar peste 40% din internările în acest serviciu sunt pentru piodermite sau dermite suprainfectate, ceea ce explică această situație (Graficul nr. 2).



Graficul nr. 2. Distribuția examinărilor microbiologice după solicitant

Trimiterea unui anumit prelevat provenit dintr-o anume secție cu o frecvență ridicată, pe unitatea de timp, poate indica existența în proporție mai mare a infecțiilor nosocomiale sau chiar evoluția unui focar epidemic de infecție nosocomială. Aceeași interpretare se poate da și recoltării unui număr mare de probe de la un singur pacient, fără ca acesta să fie internat pentru o maladie infecțioasă sau pentru o boală cronică infectată sau suprainfectată.

Antibioticele testate pentru eficiența activității lor antimicrobiene, în intervalul de timp luat în studiu, au fost în număr de 53. Dintre acestea, doar 32 au fost testate permenent sau pentru o perioadă de timp mai îndelungată. Antibioticele testate includ toate grupele de substanțe antimicrobiene și acoperă practic tot spectrul antimicrobian.

Secțiile clinice cu risc înalt pentru infecții nosocomiale au fost identificate pe baza datelor anterior. Am ales dintre acestea *serviciul de traumatologie* și *serviciul de anestezie și terapie intensivă* (ATI). Am urmărit următoarele aspecte: prelevatele recoltate și trimise pentru examen microbiologic, specii bacteriene izolate, asocierile de germeni în

prelevatele recoltate, prezența aceluiași germen în mai multe prelevate recoltate de la un singur pacient, numărul de examene microbiologice solicitate pentru un singur pacient. Datele reflectă situația din trimestrul al II-lea al anului 1999.

La nivelul *secției de traumatologie* , germenii izolați și identificați în prelevate au fost: stafilococul auriu 33%, colibacilul 21%, stafilococul epidermidis 19%, *Klebsiella pneumoniae* 14%, enterobacter 6%, piocianicul 5%, proteus 2%.

Distribuția germenilor după prelevat arată preponderența stafilococilor în prelevatele *secreție plagă* și *secreție tub de dren* și a colibacilului în prelevatul *urină*.

Analiza distribuției germenilor și a prelevatelor în funcție de pacient sugerează existența unor infecții de etiologie nosocomială cu *Staphylococcus aureus* în 3 cazuri, cu *Escherichia coli* într-un singur caz și cu *Klebsiella pneumoniae* la 2 pacienți; unuia dintre aceștia germenul i-a fost izolat și identificat în două prelevate, urină și secreție tub de dren. Absența identificării tulpinilor circulante prin lizotipie sau prin tipare fagică privează epidemiologul de posibilitatea stabilirii circuitului tulpinilor bacteriene în spital și a identificării tulpinilor implicate în infecțiile nosocomiale dintr-o secție sau din secții diferite.

La un singur pacient au fost izolați simultan doi germeni diferiți, *Klebsiella pneumoniae* în secreție tub de dren și urină și *Staphylococus aureus* în secreție tub de dren.

Serviciul de Anestezie – Terapie intensivă a fost caracterizat de prezența a 38 de tulpini bacteriene izolate și identificate. Un aspect particular este acela al ponderii surprinzător de mare a tulpinilor de *Klebsiella pneumoniae,* 42%; *Escherichia coli* 18%, stafilococii auriu și epidermidis 19% (11+8), *Pseudomonas aeruginosa* 13%, *Enterobacter cloacae* 8%.

Analizând distribuția germenilor și prelevatelor în funcție de pacient amintim prezența stafilococului epidermidis la un pacient în două prelevate diferite, secreție tub de dren și lichid pleural; colibacilul a fost izolat la 6 pacienți, doi dintre ei cu câte două prelevate pozitive pentru acest germen, secreție tub de dren și urină. De remarcat prezența colibacilului în prelevatul secreție tub de dren în 4 situații diferite. Unui pacient i s-au izolat în prelevatul secreție tub de dren două bacterii, ambele cu potențial nosocomial major, *Pseudomonas aeruginosa* și *Escherichia coli.*

Klebsiella pneumoniae a fost prezentă în toate tipurile de prelevate recoltate în serviciul ATI, respectiv *secreție tub de dren* (3 probe diferite), *urină* (2 probe), *secreție plagă* (2 probe diferite), *hemocultură* (1 probă). Unui pacient acest germen i-a fost izolat și identificat atât în *secreția plagă* cât și în *secreția tub de dren.*

Bacilul piocianic a fost izolat și identificat la 5 pacienți diferiți în prelevatele *secreție tub de dren, secreție plagă* și *urină.* La un pacient în prelevatul secreție plagă a fost izolat pe lângă piocianic și colibacil.

Ținând seama de datele epidemiologice analizate: repartiția agentului patogen după prelevat, prezența acestuia în prelevate care sugerează prezența unei infecții nosocomiale, distribuția prelevatelor și a bacteriilor după pacient și prezența unor infecții cu mai mulți germeni, prezența concomitentă în același prelevat a mai multor germeni etc., putem afirma că la nivelul serviciilor de *traumatologie* și *ATI* există și se manifestă, în perioada analizată, infecții nosocomiale.

Controlul stării igienico-sanitare în spital a avut drept scop evaluarea stării de curățenie în spital, a modului în care se practică sterilizarea, dezinfecția etc.

Din 347 de *tampoane igienico-sanitare* (TIS) pentru evaluarea încărcăturii microbiene a suprafețelor în blocurile operatorii, saloane postoperatorii, săli de pansamente, 81% s-au încadrat în normele admise. În 12% din probele necorespunzătoare a fost izolat stafilococ auriu.

Evaluarea *încărcăturii microbiene a aerului* (aeromicroflora) din blocurile operatorii, sălile de pansamente, saloanele postoperator a evidențiat aproape 50% din probe ca necorespunzătoare. De remarcat gradul ridicat de prăfuire în lunile de vară când aerisirea se face mai ales prin deschiderea ferestrelor.

Controlul *presterilizării* instrumentarului (testul Adler) se efectuează pentru identificarea prezenței urmelor de sânge pe instrumentarul chirurgical pregătit pentru a fi sterilizat. Din cele 192 de teste efectuate au fost identificate ca necorespunzătoare 3 probe, adică 2% din totalul probelor.

Controlul sterilizării a constat în 377 de teste pentru verificarea eficienței sterilizării instrumentarului și a materialului moale. 17 probe au fost necorespunzătoare, dintre care 10 au fost bobine de ață chirurgicală.

Starea igienico-sanitară în oficiile alimentare și blocul alimentar a fost evaluată prin 638 de teste igienico-saniatre dintre care 7% au fost necorespunzătoare; de menționat gradul ridicat de contaminare cu fungi din depozitul de legume și zarzavat.

A fost evaluat portajul de germeni patogeni la personalul spitalului.

Din 37 de tampoane nazale recoltate de la personalul blocurilor operatorii 16 au fost pozitive pentru *Staphylococcus aureus.*

Controlul stării de igienă a personalului s-a executat prin identificarea numărului de germeni (unități formatoare de colonii, UCF/dm^2) la nivelul mâinilor. Au fost testați 38 de medici și asistente medicale. Încărcătura microbiană a fost între 0-100 UCF la 7 persoane, între 101-300 UCF la 19 persoane, peste 300 UCF la 12 persoane.

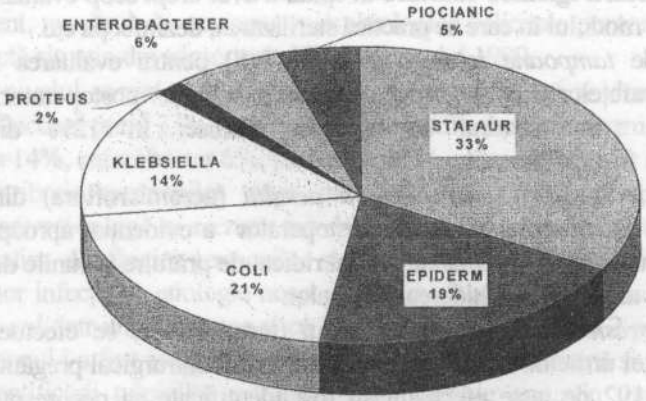
Analizând rezultatele obținute din investigarea stării igienico-sanitare din spital, putem afirma că pacienții sunt supuși unui real risc de contaminare bacteriană, ceea ce impune executarea mult mai riguroasă a activităților de curățenie, dezinfecție, sterilizare, de respectare a regulilor de igienă personală și colectivă.

Identificarea infecțiilor nosocomiale

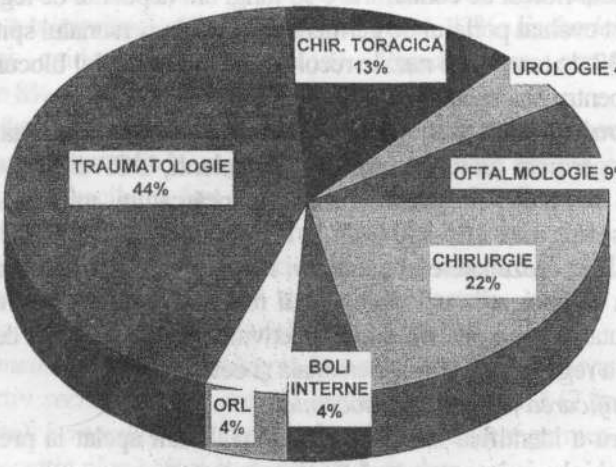
Pentru a identifica infecțiile nosocomiale am apelat la prelevatele trimise spre examen microbiologic într-o singură zi, aleasă aleator.

Au fost identificate 23 de solicitări pentru examen bacteriologic pentru prelelevatele: *secreție plagă, puroi plagă, spută purulentă, secreție tub de dren.* Dintre acestea 44% provin de la serviciul *traumatologie*, 22% de la serviciul *chirurgie,* 13% de la serviciul *chirurgie toracică*, 9% de la serviciul *oftalmologie*, 4% de la serviciul ORL etc (Graficul nr. 4).

Germenii izolați și identificați în aceste prelevate au fost: *Staphylococcus aureus* 48 %, *Staphylococcus epidermidis* 26%, *Pseudomonas aeruginosa* 9%, *Escherichia coli* 9%, *Klebsiella pneumoniae* 4% etc.



Grafic nr. 3. Distribuția germenilor izolati în secția de traumatologie



Graficul nr. 4. Distribuția specimenelor după secție – suspiciune de infecție nosocomială

Din cele 23 de prelevate, 10 au provenit de la serviciul de *traumatologie.*

Din studiul foilor de observație și din rezultatele microbiologice pot fi diagnosticate 5 cazuri de infecție nosocomială, care reprezintă 6,02% din pacienții

internaţi în serviciul de traumatologie în ziua respectivă. Toate cazurile au drept agent etiologic *Staphylococcus aureus*. Analizând comportamentul acestor tulpini faţă de antibiotice remarcăm nivelurile ridicate de rezistenă faţă de *gentamicină* 40%, faţă de *oxacilină* 60%, faţă de *ceftriaxonă* 20%, *imipenem* 40%, *ciprofloxacină* şi *cloramfenicol* 40% etc.

Alte 3 infecţii nosocomiale au fost identificate în serviciul de *chirurgie*, germenul izolat fiind tot stafilococul auriu, cu un profil de rezistenţă asemănător cu al stafilococilor izolaţi în traumatologie.

În concluzie, identificarea infecţiilor nosocomiale este posibilă şi prin metoda anchetei epidemiologice, pornind de la datele furnizate de laboratorul de microbiologie. După prelucrarea datelor culese, se pot selecţiona suspiciunile de infecţie nosocomială, iar investigaţia poate fi continuată în secţia clinică cu acceptul şi colaborarea medicilor clinicieni.

Comentariu final

Impactul infecţiilor nosocomiale asupra pacientului, presiunea pe care o exercită asupra personalului medical şi influenţa lor în costurile medicale sunt elemente care nu pot fi neglijate în nici un fel dacă se doreşte îmbunătăţirea calităţii actului medical şi scăderea reală a cheltuielilor.

Fenomenul care este cel mai des citat în literatură şi care influenţează în mod direct starea pacientului este rezistenţa microbiană la antibiotice. Nu de puţine ori în infecţii localizate sau sistemice are loc o "luptă" oarbă între medic şi microorganismul patogen care posedă rezistenţă sau multirezistenţă la antibioticele cu care este "bombardat" de către medic.

Ignorarea etapelor diagnostice, a unor principii terapeutice şi profilactice duce la administrarea empirică şi chiar haotică a antibioticelor, urmată în mod firesc de eşecul terapeutic. Eşecul terapeutic se datorează de cele mai multe ori necunoaşterii sensibilităţii la antimicrobiene a agentului microbian incriminat.

Profilul de rezistenţă la antibiotice a diferitelor tulpini şi specii bacteriene circulante în spital este un important instrument de lucru pentru clinicieni. El ajută la alegerea cât mai aproape de "realitate" a terapiei antibacteriane de primă intenţie, pe baza datelor statistice furnizate. Acest fapt ar duce la diminuarea perioadei de tratament, de spitalizare, la reducerea cheltuielilor şi la reducerea riscului de apariţie a rezistenţei microbiene.

De asemenea utilizarea unor metode de laborator pentru conducerea şi evaluarea tratamentului antimicrobian îşi găseşte utilitatea atunci când obţinerea unor niveluri sanguine eficiente de antibiotic este necesară, cum este cazul în tratamentul infecţiilor sistemice, al endocarditelor, al osteomielitelor.

Alegerea antibioticului în funcţie de CMI sau CMB, administrarea lui în funcţie de proprietăţile lui farmacodinamice, cunoaşterea nivelului sanguin bactericid sau inhibitor, se constituie în componentele unui tratament antimicrobian bazat pe date ştiinţifice, cu şanse de reuşită.

O problemă extrem de importantă este aceea a cunoaşterii tulpinilor microbiene care circulă în spital. Cunoaşterea fenotipului sau lizotipului tulpinilor izolate şi

identificate permite identificarea traseelor prin care aceste tulpini difuzează de la un pacient la altul, a căilor prin care germenii sunt transferați dintr-un serviciu într-altul. Aparent fără importanță pentru medicul clinician, aceste informații permit supravegherea circulației unei anumite tulpini, permit identificarea surselor de infecție și/sau a rezervorului de germeni, cum ar fi de exemplu purtătorii de stafilococ auriu sau epidermidis din rândul personalului blocului operator sau purtătorii de salmonele sau shigele din rândul personalului de auxiliar

Din păcate, la nivelul spitalului analizat există multe condiții favorizante ale apariției fenomenului de rezistență bacteriană la antibiotice.

Condițiile favorizante sunt:

Condiții favorizate de clinică: diagnosticul de infecție este aproape întotdeauna urmat de administrarea de antibiotice, indiferent de starea clinică a pacientului; recoltarea de prelevate pentru examenul microbiologic este de cele mai multe ori amânată sau chiar compromisă din cauza administrării antibioticelor; administrarea profilactică a antibioticelor preoperator.

Condiții favorizate de laborator: efectuarea antibiogramelor nu este întotdeauna conformă cu metodele standardizate, utilizarea de discuri cu concentrații diferite de antibiotic; nu se face identificarea fonotipică, lizotipică etc a tulpinilor izolate; nu se execută controlul intern de calitate, pe tulpini standard; nu se execută controlul extern de calitate.

Condițiilor favorizante apariției și dezvoltării unor tulpini microbiene rezistente și multirezistente la antibiotice li se adaugă lipsa aproape în totalitate a preocupărilor legate de identificarea, supravegherea și controlul infecțiilor nosocomiale.

Privite ca o activitate neesențială, atribut doar al epidemiologilor, supravegherea și controlul infecțiilor nosocomiale este îngreunată de ignorarea sau câteodată chiar de opoziția clinicianului la efectuarea unor investigații menite să evalueze impactul acestor infecții asupra pacienților, actului medical, costurilor etc.

Realizarea "anchetei de o zi" a fost urmată de discuții la nivelul secțiilor implicate din care au rezultat următoarele concluzii:

- diagnosticul de infecție la internare este extrem de important, el influențând considerabil investigațiile și tratamentul pacientului;
- investigația microbiologică este singura metodă care permite cunoașterea agentului patogen și susceptibilitatea acestuia la antibiotice;
- colaborarea directă cu laboratorul de microbiologie atunci când situația o impune (ineficiența tratamentului, suspiciunea existenței mai multor germeni, particularizarea tratamentului etc.);
- apariția în timpul spitalizării a unor infecții, supurații, secreții etc. trebuie interpretată ca o infecție nosocomială;
- investigația și tratamentul infecției nosocomiale se face prin consult interdisciplinar, cu participarea laboratorului și a epidemiologului spitalului.

Toate aceste considerații sunt fără nici o valoare dacă nu sunt urmate de

elaborarea unui plan de acțiune menit să reducă incidența și prevalența infecțiilor nosocomiale în spital.

Sistem computerizat de orientare în profilaxia și terapia infecțiilor nosocomiale

În scopul îmbunătățirii activității de supraveghere, control și profilaxie a infecțiilor nosocomiale am conceput un sistem computerizat alcătuit din:

1. fișa de caz –infecție nosocomială (FCIN);
2. ghidul de completare a FCIN;
3. aplicația computerizată pentru prelucrarea informațiilor introduse în banca de date a sistemului.

În conceperea acestui sistem am cercetat o documentație extrem de variată, în principal ghiduri pentru controlul infecțiilor nosocomiale, concepute și intrate în practica de specialitate în diferite țări. Din aceste ghiduri am extras acele elemente care pot fi utilizate și adaptate la specificul spitalului analizat.

Fișa de caz – infecție nosocomială (FCIN)

În conceperea FCIN am pornit de la următoarele nevoi:

- cazul de infecție nosocomială trebuie diagnosticat și raportat de medicul curant;
- datele cuprinse în fișă să fie suficiente pentru susținerea diagnosticului de infecție nosocomială și utile pentru întocmirea unei anchete epidemiologice;
- datele din fișă să permită oricărei persoane interesate din punct de vedere profesional să intocmească studii epidemiologice, statistice, să elaboreze strategii de îmbunătățire a actului medical, să elaboreze politici eficiente de reducere a incidenței infecțiilor nosocomiale.

Fișa este concepută astfel încât să poată fi utilizate pentru analiza și sinteza datelor introduse aplicațiile EPED, ANALYSIS și STATCALC ale programului EPIINFO.

Intoducerea de date se face pe baza unui chestionar, computerizat, care este însoțit de un ghid de completare, anexat. Introducerea de date, sub formă codificată permite în etapele de analiză și sinteză prelucrarea automată a datelor.

Pe baza chestionarelor se realizează o bancă de date care poate fi oricând actualizată, accesată sau listată.

Aplicația pentru prelucrarea computerizată a datelor

După cum am amintit anterior înmagazinarea și prelucrarea datelor se face prin aplicațiile oferite de programul EPIINFO, ANALISYS și STATCALC.

Aplicația realizată permite analiza datelor în funcție de două variabile pe care și le alege utilizatorul. Trebuie spus că toate "intrările", respectiv toate rubricile care sunt completate pot deveni variabile ce pot fi analizate.

Se pot face corelații, de exemplu, între "numărul de zile de internare" și

"momentul intervenţiei chirurgicale" sau între "germenul izolat " şi "antibioticul administrat". Stabilirea variabilelor depinde de condiţiile fiecărei secţii şi mai ales de informaţiile ce sunt necesare în supravegherea şi controlul infecţiei nosocomiale.

Aplicaţia realizată permite şi preluarea datelor din "Sistemul computerizat pentru evidenţa rezistenţei la antibiotice a germenilor izolaţi în infecţiile nosocomiale ABGNOSO"

Aceast program permite prelucrarea datelor utilizând filtre selective: secţia de origine, germenul, antibiotice testate, prezentarea antibiogramei pentru fiecare bacterie inclusă în banca de date.

Realizarea unui instrument de lucru trebuie să răspundă cerinţelor domeniului pentru care a fost creat şi să fie acceptat ca atare de către utilizatori.

Consider că cel mai important este modul de implementare ceea ce presupune:

- explicarea necesităţii studierii fenomenului;
- nevoia existenţei unui instrument de lucru adecvat scopului propus;
- explicarea şi înţelegerea de către utilizatori a modului de lucru cu noul instrument;
- cunoaşterea de către utilizator a avantajelor pe care le aduce utilizarea unui nou instrument comparativ cu cele vechi.

Ca orice alt instrument de lucru acest sistem computerizat este perfectibil. Perfecţionarea lui presupune introducerea în practică şi acumularea unei experienţe suficient de bogată pentru a formula propuneri de modificare.

Concluzii

Parcurgând etapele anchetei epidemiologice asupra fenomenului rezistenţei bacteriene la antibiotice şi a identificării infecţiilor nosocomiale în spitalul luat în studiu am ajuns la următoarele concluzii:

1. Concluzii referitoare la studiul rezistenţei microbiene la antibiotice:
   - la nivelul spitalului recoltarea şi transportul prelevatelor către laboratorul de microbiologie se face corespunzător, fără a exista condiţii de contaminare a mediului sau personalului şi de contaminare externă a prelevatelor;
   - prelucrarea prelevatelor se face uneori cu întârziere, ceea ce poate duce la alterarea lor şi modificarea rezultatelor;
   - nu se practică, cu foarte rare excepţii, examenul microbiologic direct;
   - antibiogramele sunt efectuate în funcţie de materialele existente în laborator, ceea ce duce de multe ori la rezultate ce nu pot fi comparate între ele;
   - nu se execută controlul intern de calitate a rezultatelor prin testarea discurilor pentru antibiograme pe tulpini standard;
   - nu se execută caracterizarea fenotipică, lizotipică a tulpinilor izolate şi identificate.

2. Concluzii referitoare la supravegherea, profilaxia şi controlul infecţiilor nosocomiale:

- la nivelul spitalului activitatea de supraveghere, prevenire şi control a infecţiilor nosocomiale se execută sporadic;
- nu există un sistem de raportare a infecţiilor nosocomiale;
- la nivelul secţiilor clinice antibioticoterapia se practică de cele mai multe ori fără recoltarea prealabilă de prelevate pentru examenul microbiologic;
- profilaxia cu antibiotice este o obişnuinţă a medicilor, de cele mai multe ori nejustificată de condiţii obiective;
- consultul interdisciplinar pentru diagnosticul şi tratamentul infecţiilor severe se practică numai în situaţii excepţionale.

3. Concluzii asupra modului în care am desfăşurat ancheta epidemiologică:

- nu am reuşit să angajez în această anchetă medicii curanţi şi consider acest fapt ca un neajuns al studiului dar influenţat de mentalitatea celor apelaţi;
- nu am avut acces la banca de date a farmaciei spitalului pentru a analiza consumul specific de antibiotice;
- foile de observaţie din arhiva spitalului au putut fi consultate numai sporadic;

În concluzie, la nivelul spitalului se manifestă fenomenul rezistenţei bacteriene la antibiotice, iar infecţiile nosocomiale sunt prezente dar, deşi recunoscute teoretic, în practică sunt ignorate, motiv pentru care nu se poate evalua adevărata lor amploare.

SUPRAVEGHEREA EPIDEMIOLOGICĂ A REZISTENȚEI BACTERIENE LA CHIMIOTERAPICE, PENTRU CONTROLUL INFECȚIILOR NOSOCOMIALE

V. Ordeanu, F. Paul
Centrul de Cercetări Ştiinţifice Medico-Militare Bucureşti

Abstract
We have been experimenting a statistical test of the bacterial resistance at antimicrobial substance for therapy use for nosocomial infections (IN) flora.
This is important beca use of the extraordinary wide and common polypharmacoresistance in hospitals.
Generally we notice that:
-at hospital level the analyses and the samples transport to the microbiology lab takes place appropriately, existing no contamination conditions of the emvironment or personal and external contamination of the samples;
-the processing of the samples sometimes takes place late and that may lead to the alteration and remaking of the results;
-the direct microbiological examination is carried aut seldam;
-the testing for microbiol sensitivity are arried out according to the existent staff in the laboratory and that may lead at esults which many times cannot be compared among themselves;
-the internal quality control of results does not take place by testing the disks for testing for microbiol sensitivity on standard strains;
-the caracterization of isolated and identified strains is not always carried out;
-the bacteria in nosocomial infections have polypharmacoresistance to the antimicrobians and are a permanent risk in all hospital units.
Knowing the bacterial sensitivity at chimiotherapies we gain control on IN, we improve medical assistance and therefore we diminish the prices.

Rezistența microbiană la antibiotice poate fi definită ca abilitatea germenilor patogeni de a supraviețui şi de a se multiplica în prezența uneia sau mai multor substanțe antimicrobiene. Germenii rezistenți sunt sau devin "toleranți" la antibiotice, susträgându-se prin variate modalități efectului antibacterian scontat, după administrarea de doze terapeutice, netoxice pentru organism.

Se descriu: a) *rezistența naturală, de specie*, la antibiotice, care este caracteristică unor specii bacteriene şi b) *rezistența dobândită la antibiotice*, definită ca

fenomen adaptativ al speciilor microbiene faţă de mediul extern nefavorabil şi care se realizează prin mecanisme diverse, determinate finalmente de specia microbiană implicată şi de tipul de substanţă antimicrobiană utilizată.

Antibiograma, atât prin procedeul clasic, difuzimetric, cât şi prin mijloace moderne, automatizate, prin metode calitative sau cantitative, reprezintă modalitatea cea mai simplă de a evalua acţiunea substanţelor antimicrobiene asupra germenilor. În acelaşi timp antibiograma, cu toate varietăţile şi modernizările ei, cum ar de exemplu E-testul, oferă indicaţii valoroase asupra tratamentului antimicrobian ce trebuie aplicat în cazul unei infecţii. Antibiograma trebuie în acelaşi timp interpretată doar ca un "ghid în alegerea terapiei antimicrobiene" şi nu ca un "ordin de prescriere" (M.Voiculescu), ea fiind un instrument util atât timp cât "nu i se cere mai mult decât poate oferi" (M. Balş).

Material şi metodă

Caracteristicile lotului studiat şi parametrii studiaţi

În vederea stabilirii principalelor specii bacteriene izolate şi identificate în spital şi pentru stabilirea profilului rezistenţei acestora la antibiotice am utilizat ca sursă de informaţie banca de date a laboratorului de microbiologie al spitalului din care am extras rezultatele culturilor microbiene şi antibiogramele din anii 1993, 1996, 1999.

Laboratorul de microbiologie îşi desfăşoară activitatea în cadrul laboratorului central al spitalului şi este încadrat cu un medic de specialitate şi o asistentă medicală de laborator.

Metoda de lucru utilizată în laborator este în momentul de faţă o metodă automatizată. Din anul 1995 laboratorul a fost dotat cu un echipament MiniAPI – BioMerieux.

Cu toate acestea, din motive de aprovizionare şi resurse financiare ale spitalului echipamentul nu este utilizat la întreaga sa capacitate şi performanţă. Absenţa galeriilor specifice pentru examenele biochimice, a galeriilor standardizate pentru antibiogramă, face ca de multe ori una din etapele diagnosticului microbiologic să fie executată automatizat, iar altele manual, conform procedurilor clasice.

Una din problemele care ne-a împiedicat în aprofundarea anchetei epidemiologice este aceea a absenţei caracterizării fenotipice a tulpinilor bacteriene izolate şi identificate în spital. Această metodă este extrem de importantă în supravegherea tulpinilor circulante în spital, în stabilirea filiaţiei cazurilor.

Un alt inconvenient întâlnit în studiul nostru a fost acela al identificării caracteristicilor microcomprimatelor pentru antibiograme. Acest lucru se explică prin utilizarea mai multor furnizori de microcomprimate şi utilizarea unor microcomprimate cu concentraţii diferite, ceea ce duce inevitabil la rezultate care pot fi contradictorii. Consider extrem de importantă această "particularitate" deoarece ea influenţează decisiv tratamentul cu antibiotice în spital.

Până în anul 1995 laboratorul a folosit metoda antibiogramei difuzimetrice, utilizând seturile de microcomprimate furnizate de Intreprinderea de Medicamente Bucureşti şi Labormed, şi biodiscuri produse de firma Oxoid şi de BioMerieux – Pasteur.

Un alt element important este acela legat de controlul calităţii în cadrul laboratorului. Numai sporadic sunt efectuate teste pe tulpini standardizate, mai ales la introducerea în lucru a unor discuri provenite de la furnizori noi sau când sunt introduse

în practică seturi de discuri aflate la limita valabilității.

Pentru investigarea rezistenței germenilor la substanțele antimicrobiene am cules următoarele categorii de date:

-antibiogramele aflate în banca de date a laboratorului de microbiologie din anii 1993, 1996, 1999;

-recoltarea de probe igienico-sanitare de la pacienți, personalul medical şi de îngrijire din anul 1999;

-recoltarea de probe din mediul spitalicesc: suprafețe, aeromicroflora, probe de sterilitate din anul 1999.

Rezultate

Din 18.624 de culturi microbiene luate în studiu, 15.311 au fost însoțite de antibiogramă. Dintre acestea au corespuns criteriilor de introducere în studiu 14.368 antibiograme, dintre care 2.091 au fost examene repetate aceluiaşi pacient pentru confirmarea diagnosticului sau pentru evaluarea tratamentului antibiotic. În final am selecționat 12.277 antibiograme.

Principalele specii izolate şi identificate în cei trei ani luați în studiu sunt (în paranteză tulpinile izolate în anul 1999): *Staphylococcus aureus* 1.073 (397) tulpini, *Staphylococcus epidermidis* 1261 (305) tulpini, *Streptococcus pneumoniae* 212 (43) tulpini, *Escherichia coli* 3.861 (1.259) tulpini, *Enterobacter cloacae* 916 (241) tulpini, *Klebsiella pneumoniae* 1.179 (377) tulpini, *Proteus mirabilis* 358 (116) tulpini, *Pseudomonas aeruginosa* 971 (319) tulpini (tabelul nr. 1).

Tabelul nr. 1. Principalele specii bacteriene izolate şi identificate

AGENT INFECȚIOS	*Global*	*1999*
Staphylococcus aureus	*1073*	*397*
Staphylococcus epidermidis	*1261*	*305*
Streptococcus spp.	*462*	*193*
Streptococus pneumoniae	*212*	*43*
Escherichia coli	*3816*	*1259*
Enterobacter cloacae	*916*	*241*
Klebsiella pneumoniae	*1179*	*377*
Acinetobacter spp.	*275*	*82*
Proteus mirabilis	*358*	*116*
Pseudomonas aeruginosa	*971*	*319*
Alți germeni	*1754*	*336*
Total	*12277*	*3668*

Analiza distribuției speciilor bacteriene în funcție de prelevat relevă aspecte interesante: în prelevatul "secreție tub de dren" piocianicul reprezintă 41% din totalul tulpinilor izolate şi identificate; în hemoculturi ponderea stafilococilori, auriu şi epidermidis este de 46%, în prelevatul "secreție plagă" ponderea cea mai mare o are stafilococul auriu, 26%, staf. epidermidis 21% iar piocianicul 16% etc. În urocultură

colibacilul reprezintă 54%, enterobacter 14%, klebsielele 10% etc.

Prelevatele cel mai frecvent trimise la laborator sunt: urina 49%, secreţie plagă 12%, secreţie nazală 9%, exudat faringian 5%, sângele pentru hemocultură 1%.

Se remarcă ponderea mare a prelevatului *urină*, 49% din totalul prelevatelor. Prelevatele *secreţie plagă* şi *puroi*, presupuse a fi provenite şi de la bolnavi cu infecţii nosocomiale reprezintă 14%.

Analizând proveniența prelevatelor în funcţie de secţie am observat că prelevatele *secreţie plagă* şi *puroi* sunt cel mai des solicitate de *serviciul de traumatologie. Servicul de traumatologie* trimite spre examinare microbiologică 37% din prelevatul *secreţie plagă*, urmat pe locul al doilea serviciul de dermatologie, dar peste 40% din internările în acest serviciu sunt pentru piodermite sau dermite suprainfectate, ceea ce explică această situaţie.

Trimiterea unui anumit prelevat provenit dintr-o anume secţie cu o frecvenţă ridicată, pe unitatea de timp, poate indica existenţa în proporţie mai mare a infecţiilor nosocomiale sau chiar evoluţia unui focar epidemic de infecţie nosocomială. Aceeaşi interpretare se poate da şi recoltării unui număr mare de probe de la un singur pacient, fără ca acesta să fie internat pentru o maladie infecţioasă sau pentru o boală cronică infectată sau suprainfectată.

Antibioticele testate pentru eficienţa activităţii lor antimicrobiene, în intervalul de timp luat în studiu, au fost în număr de 53. Dintre acestea doar 32 au fost testate permanent sau pentru o perioadă de timp mai îndelungată. Antibioticele testate includ toate grupele de substanţe antimicrobiene şi acoperă practic tot spectrul antimicrobian (tabelul nr. 2)

Tabelul nr. 2. Antibiotice testate

- *betalactamine:*
- *peniciline:*
  - *penicilina G **(PEN)**, ampicilina **(AMP)**, amoxicilina **(AMX)**, oxacilina **(OXA)** şi asocierea amoxicilina+acid clavulanic **(ACV)**;*
  - *carboxipeniciline: carbenicilina **(CAB)**, ticarcilina **(TIC)**;*
  - *ureidopeniciline: azlocilina **(AZL)**, piperacilina **(PIP)**;*
  - *carbapenemi: imipenem **(IMI)**;*
- *cefalosporine:*
  - *generaţia a I-a: cefalotina (CLT), cefalexina (CFL);*
  - *generaţia a II-a: cefoxitina (COX), cefuroxima (CFU);*
  - *generaţia a III-a ceftazidima **(CFT)**, ceftriaxona **(CFX)**;*
- *aminoglicozide:*
  - *streptomicina **(STR)**, kanamicina **(KAN)**;*
  - *gentamicina **(GEN)**;*
  - *amikacina **(AMK)**, netilmicina **(NET)**;*

- *polimixine:*
  - *colimicina (**COL**)*
- *macrolide:*
  - *eritromicina (**ERT**);*
  - *claritromicina (**CLR**), azitromicina (**ATR**);*
- *chinolone:*
  - *acidul nalidixic (**NAL**);*
  - *ofloxacina (**OFL**), ciprofloxacina (**CIP**);*
- *tetracicline:*
  - *tetraciclina (**TET**)*
- *cotrimoxazolul (CTX);*
- *rifampicina (RIF);*
- *metronidazolul (MTR).*

Abrevierile prezentate în paranteză sunt folosite în continuare în tabele şi în reprezentările grafice.

Secţiile clinice cu risc înalt pentru infecţii nosocomiale au fost identificate pe baza datelor anterior. Am ales dintre acestea *serviciul de traumatologie* şi *serviciul de anestezie şi terapie intensivă* (ATI). Am urmărit următoarele aspecte: prelevatele recoltate şi trimise pentru examen microbiologic, specii bacteriene izolate, asocierile de germeni în prelevatele recoltate, prezenţa aceluiaşi germen în mai multe prelevate recoltate de la un singur pacient, numărul de examene microbiologice solicitate pentru un singur pacient. Datele reflectă situaţia din trimestrul al II-lea al anului 1999.

La nivelul *secţiei de traumatologie*, germenii izolaţi şi identificaţi în prelevate au fost: stafilococul auriu 33%, colibacilul 21%, stafilococul epidermidis 19%, *Klebsiella pneumoniae* 14%, enterobacter 6%, piocianicul 5%, proteus 2% etc.

Distribuţia germenilor după prelevat arată preponderenţa stafilococilor în prelevatele *secreţie plagă* şi *secreţie tub de dren* şi a colibacilului în prelevatul *urină*.

Analiza distribuţiei germenilor şi a prelevatelor în funcţie de pacient sugerează existenţa unor infecţii de etiologie nosocomială cu *Staphylococcus aureus* în 3 cazuri, cu *Escherichia coli* într-un singur caz şi cu *Klebsiella pneumoniae* la 2 pacienţi; unuia dintre aceştia germenul i-a fost izolat şi identificat în două prelevate, urină şi secreţie tub de dren. Absenţa identificării tulpinilor circulante prin lizotipie sau prin tipare fagică privează epidemiologul de posibilitatea stabilirii circuitului tulpinilor bacteriene în spital şi a identificării tulpinilor implicate în infecţiile nosocomiale dintr-o secţie sau din secţii diferite.

La un singur pacient au fost izolaţi simultan doi germeni diferiţi, *Klebsiella pneumoniae* în secreţie tub de dren şi urină şi *Staphylococus aureus* în secreţie tub de dren.

Serviciul de Anestezie – Terapie intensivă a fost caracterizat de prezenţa a 38 de tulpini bacteriene izolate şi identificate. Un aspect particular este acela al ponderii surprinzător de mare a tulpinilor de *Klebsiella pneumoniae*, 42%; *Escherichia coli* 18%,

stafilococii, auriu şi epidermidis 19% (11+8), *Pseudomonas aeruginosa* 13%, *Enterobacter cloacae* 8%.

Analizând distribuţia germenilor şi prelevatelor în funcţie de pacient amintim prezenţa stafilococului epidermidis la un pacient în două prelevate diferite, secreţie tub de dren şi lichid pleural; colibacilul a fost izolat la 6 pacienţi, doi dintre ei cu câte două prelevate pozitive pentru acest germen, secreţie tub de dren şi urină. De remarcat prezenţa colibacilului în prelevatul secreţie tub de dren în 4 situaţii diferite. Unui pacient i s-au izolat în prelevatul secreţie tub de dren două bacterii, ambele cu potenţial nocsocomial major, *Pseudomonas aeruginosa* şi *Escherichia coli.*

Klebsiella pneumoniae a fost prezentă în toate tipurile de prelevate recoltate în serviciul ATI, respectiv *secreţie tub de dren* (3 probe diferite), *urină* (2 probe), *secreţie plagă* (2 probe diferite), *hemocultură* (1 probă). Unui pacient acest germen i-a fost izolat şi identificat atât în *secreţia plagă* cât şi în *secreţia tub de dren.*

Bacilul piocianic a fost izolat şi identificat la 5 pacienţi diferiţi în prelevatele *secreţie tub de dren, secreţie plagă* şi *urină.* La un pacient în prelevatul secreţie plagă a fost izolat pe lângă piocianic şi colibacil.

Ţinând seama de datele epidemiologice analizate: repartiţia agentului patogen după prelevat, prezenţa acestuia în prelevate care sugerează prezenţa unei infecţii nosocomiale, distribuţia prelevatelor şi a bacteriilor după pacient şi prezenţa unor infecţii cu mai mulţi germeni, prezenţa concomitentă în acelaşi prelevat a mai multor germeni, etc., putem afirma că la nivelul serviciilor de *traumatologie* şi *ATI* există şi se manifestă, în perioada analizată, infecţii nosocomiale.

Principalele specii bacteriene analizate în detaliu în cadrul lucrării sunt: *Staphylococcus aureus;. staphylococus epidermidis; Streptococcus pneumoniae; Escherichia coli; Klebsiella pneumoniae; Proteus mirabilis; Enterobacter cloacae; Pseudomonas aeruginosa.*

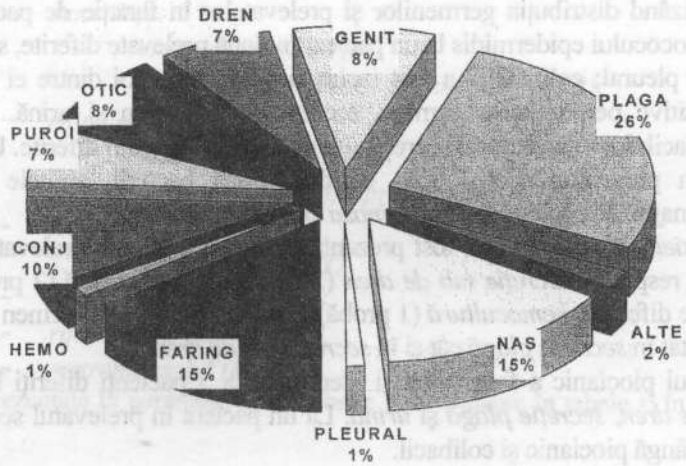
Specia *Staphylococcus aureus*

În intervalul luat în studiu, în laboratorul de microbiologie al spitalului au fost izolate şi identificate 1.218 tulpini de stafilococ auriu din care doar 1.073 de tulpini au corespuns criteriilor de introducere în studiu.

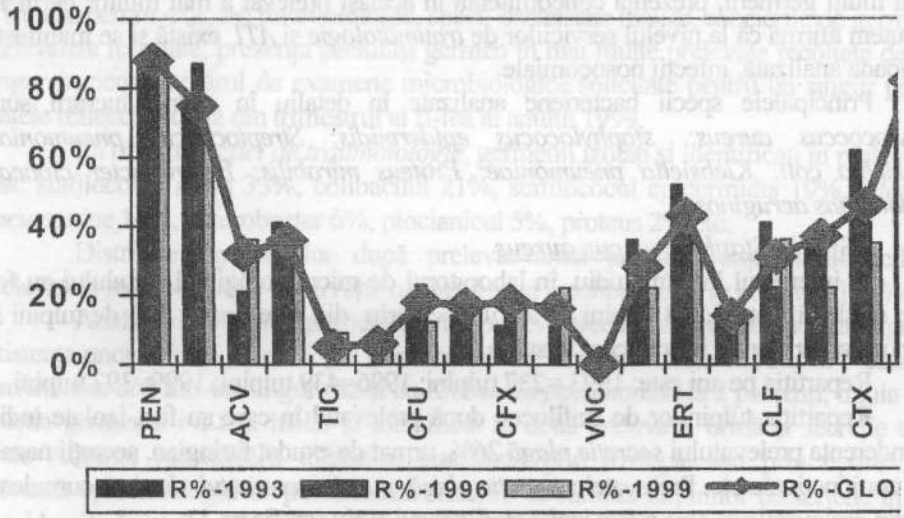
Repartiţia pe ani este: 1993 =237 tulpini; 1996=439 tulpini; 1999=397 tulpini.

Repartiţia tulpinilor de stafilococ după prelevatul în care au fost izolate indică preponderenţa prelevatului *secreţie plagă* 26%, urmat de exudat faringian, secreţii nazale, otice, conjunctivale etc. Prelevatele *secreţie plagă, puroi, secreţie tub de dren* cumulează 40% din prelevatele în care a fost izolat stafilococul auriu (grafic nr. 1).

Testarea comportamentului tulpinilor de stafilococ izolate şi identificate la antibiotice a arătat niveluri crescute ale rezistenţei stafilococilor faţă de multe din antibioticele uzuale (graficul nr. 2): la ampicilină niveluri ale rezistenţei între 65% şi 85%, la cotrimoxazol între 50% şi 70%. Nivelurile de rezistenţă ale stafilococilor aurii la cefalosporine se situează între 12% şi 18% pentru cefuroximă, între 18% şi 24% pentru ceftriaxonă. Nivelurile de rezistenţă la aminoglicozide sunt superioare celor raportate în literatură, încadrându-se între 35% şi 22% pentru gentamicină.



Graficul nr. 1. Repartiția stafilococilor aurii după prelevate



Graficul nr. 2 Rezistența la antibiotice a tulpinilor de stafilococ izolate în 1993, 1996, 1999

Oxacilina este activă doar pe 35% din tulpinile de stafilococ auriu, eficicitatea rifampicinei oscilează între 24% şi 35%, iar a cloramfenicolului oscilează între 40% şi 25%.

Asocierea amoxicilină + acid clavulanic pierde din eficacitatea inițială (21% în 1993, 37% în 1999) asupra stafilococului auriu.

Compararea nivelurilor de rezistență a tulpinilor de stafilococ auriu izolate din prelevate provenite din serviciul de *traumatologie* cu tulpinile izolate din prelevatele trimise la laborator de serviciul *ambulator*, considerat ca lot martor a arătat diferențe semnificative statistic la cefalosporine, aminoglicozide, oxacilină. Nu se observă diferențe semnificative la comportamentul față de fluorochinolone. La limita semnificației se află vancomicina, gentamicina, eritromicina, cloramfenicolul, rifampicina.

Evoluția rezistenței la antibiotce a stafilococilor are de regulă un aspect bifazic: într-o primă etapă, la începutul introducerii unui nou antibiotic, curba rezistenței este abrupt ascendentă apoi, în a doua fază, curba are un aspect de "platou relativ" sau discret progresiv. Acest aspect remarcat de noi confirmă cele comunicate de Codiță și Dorobăț într-un studiu publicat în anul 1998.

O mențiune specială pentru comportamentul stafilococilor față de vancomicină. În anul 1999 au fost izolate și identificate 2 tulpini de stafilococ auriu rezistente la vancomicină.

Concluzia care se poate formula analizând comportamentul stafilococilor față de antibiotice este că la nivelul spitalului circulă tulpini rezistente la antibiotice, unele dintre ele cu rezistență și multirezistență remarcabile, ceea ce impune inițierea oricărui tratament antibiotic numai pe baza informațiilor furnizate de antibiogramă.

Specia *Staphylococcus epidermidis*

A fost analizat comportamentul a 1.261 de tulpini de stafilococ epidermidis, izolate și identificate în cei trei ani luați în studiu, după cum urmează: 1993 = 482 tulpini, 1996 = 474 tulpini, 1999 = 305 tulpini.

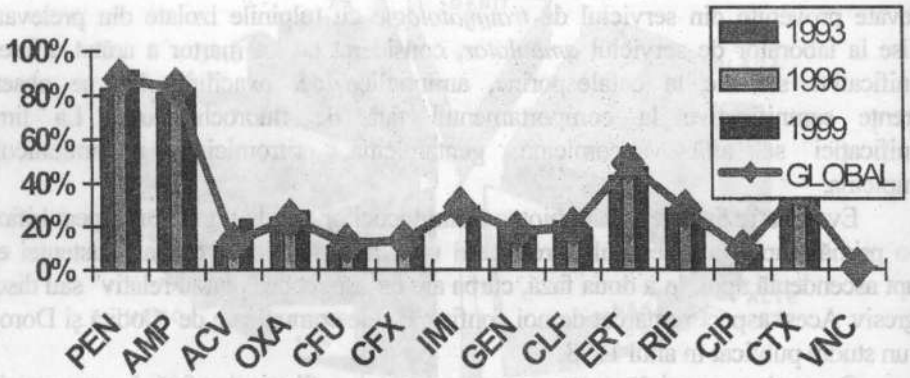
Prelevatele în care a fost izolat epidermidis sunt: *exudatul nazal* 32%, *secreția conjunctivală* 19%, *secreția otică* 14%, *secreție plagă* 11% etc.

Proveniența prelevatelor în care s-a izolat stafilococ epidermidis este: traumatologie 35%, chirugie 26%, ATI 10%, ambulator 10%, dermatologie 6% etc.

Comportamentul stafilococilor epidermidis față de antibiotice este asemănător cu cel al stafilococilor aurii.

Se remarcă nivelul ridicat de rezistență la oxacilină : 35 – 40%, la ceftriaxonă: 20%, la gentamicină: 25-40% etc. Rifampicina este activă pe 60-65% din tulpinile izolate de epidermidis, iar eritromicina pe 35-40% din tulpini. Nivelurile de rezistență la cotrimoxazol se apropie de 60%. Aminoglicozidele sunt active pe mai puțin de 70% din tulpini, asemănător cu fluorochinolonele (graficul nr. 3).

Analizând nivelurile de rezistență la antibiotice ale tulpinilor de *stafilococcus epidermidis* izolate și identificate în traumatologie comparativ cu cele izolate în ambulator, observăm diferențe semnificative statistic pentru: ampicilină, amoxicilină+acid clavulanic, oxacilină, gentamicină, cotrimoxazol. Acest aspect poate fi interpretat ca existența și circulația în spital a unor tulpini rezistente care pot genera infecții nosocomiale.



Grafic nr. 3. Dinamica rezistenței la antibiotice a tulpinilor de *Staphilococcus epidermidis*

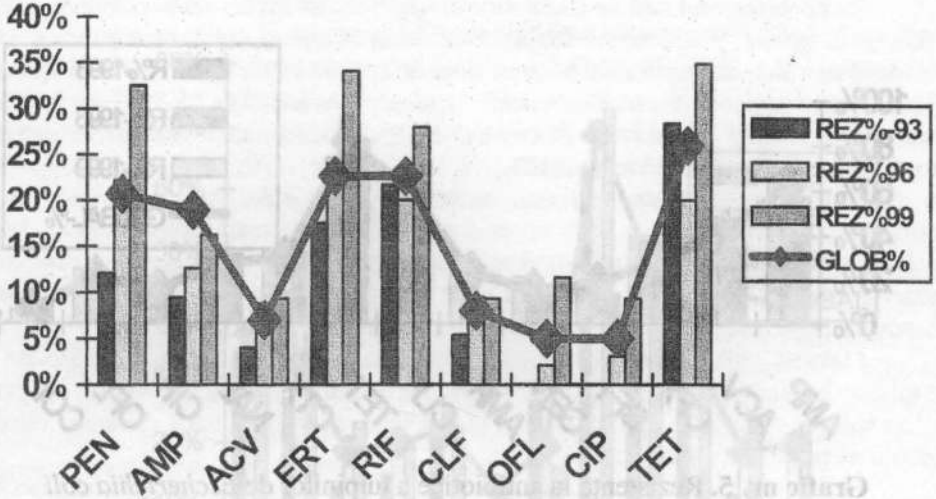
Valorile rezistenței la antibiotice a tulpinilor de *Staphylococcus epidermidis* izolate și identificate în spital indică implicarea acestei specii bacteriene în patologia de spital iar fenomenul rezistenței la antibiotice este într-o dinamică ascendentă evidentă. Acest aspect trebuie avut în vedere mai ales la pacienții care sunt expuși unui risc crescut de infecție cu stafilococul epidermidis, adică bolnavii cateterizați venos, pacienții imobilizați la pat timp îndelungat, cu traumatisme multiple sau cei cu arsuri de gradul III sau IV. Implicarea stafilocoilor epidermidis în infecțiile de cateter se datorează unui factor de aderență, *slim factor* care permite bacteriei să adere la materialele palasice și care are și funcția de a proteja bacteria de fagocite sau de agresiunea unor factori externi cum ar fi antibioticele. Studii experimentale au demonstrat efectul protector al *slim factor* față de oxacilină, amikakină, rifampicină, imipenem. Aceste informații alăturate rezultatelor obținute în această anchetă epidemiologică sunt importante doar dacă ele sunt urmate de aplicarea tuturor regulilor de asepsie și antisepsie în manevrarea sondelor, cateterelor etc.

Specia *Streptococcus pneumoniae*

Au fost analizate din punct de vedere a comportamentului față de antibiotice 212 tulpini de pneumococ (1993 = 74 tulpini, 1996 – 95 tulpini, 1999 = 43 tulpini).

Prelevatul în care acestea au fost cel mai des izolate și identificate este *exudatul faringian* 34%, urmat de *spută* 27%, *lichid pleural* 14% etc.

Din analiza comportamentului față de antibiotice remarcăm evoluția ascendentă a nivelului rezistenței tulpinilor de pneumococ la penicilină, de la 13% în 1993 la 34% în anul 1999, valori asemănătoare fiind înregistrate și la eritromicină (graficul nr. 4).



Grafic nr. 4. Dinamica rezistenței tulpinilor de *Streptococcus pneumoniae* la antibiotice

Cele mai eficace antibiotice identificate de noi ar fi fluorochinolonele, urmate de asocierea amoxicilină+acid clavulanic, active pe 95-90% din tulpinile izolate, apoi eritromicina activă pe aproximativ 70% din tulpini. Valorile obținute de noi sunt concordante cu cele raportate în literatură, iar pentru penicilină sunt sensibil egale cu cele raportate de Dorobăț.

Datele obținute în această anchetă confirmă existența și circulația unor tulpini rezistente la antibiotice în spital, ceea ce trebuie să fie ca un semnal de alarmă pentru factorii responsabili în supravegherea și controlul infecțiilor nosocomiale.

Specia *Escherichia coli*

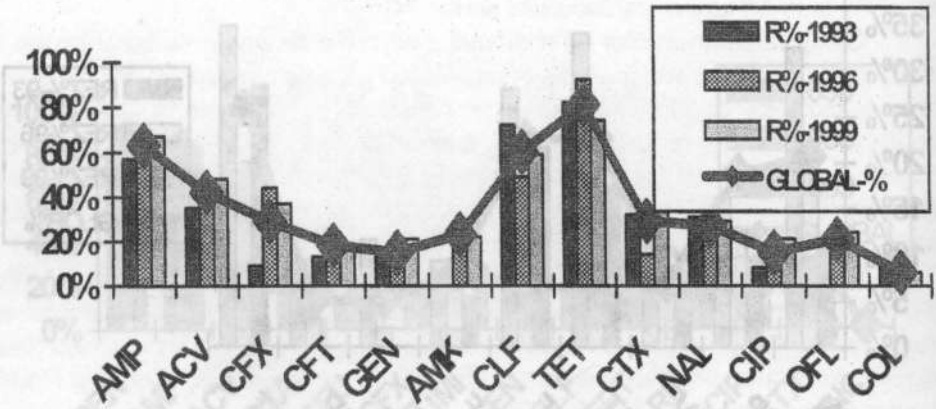
Specia *Escherichia coli* reprezintă specia bacteriană cel mai frecvent izolată și identificată în spital.

Au fost introduse în studiu 3.816 tulpini, distribuite pe ani astfel: 1993 = 1.65 tulpini, 1996 = 1.292 tulpini, 1999 – 1.259 tulpini.

Urina este prelevatul în care s-au izolat 79% din tulpinile de coli, 9% din tulpini au fost izolate în *secreții genitale*, apoi *secreție plagă* 5% etc.

Profilul rezistenței la antibiotice a tulpinilor de colibacil izolate și identificate în spital este complex (graficul nr. 5).

Dinamica rezistenței este ascendentă pentru ampicilină (55% - 70%), asocierea amoxicilină+acid clavulanic (35% - 55%), ofloxacină (15% - 25%), ciprofloxacină (8% - 20%). Variații anuale sunt observate la gentamicină (între 10-25%), la cotrimoxazol (între 20 – 40%), cloramfenicol (55- 80%) etc.



Grafic nr. 5. Rezistența la antibiotice a tulpinilor de *Escherichia coli*

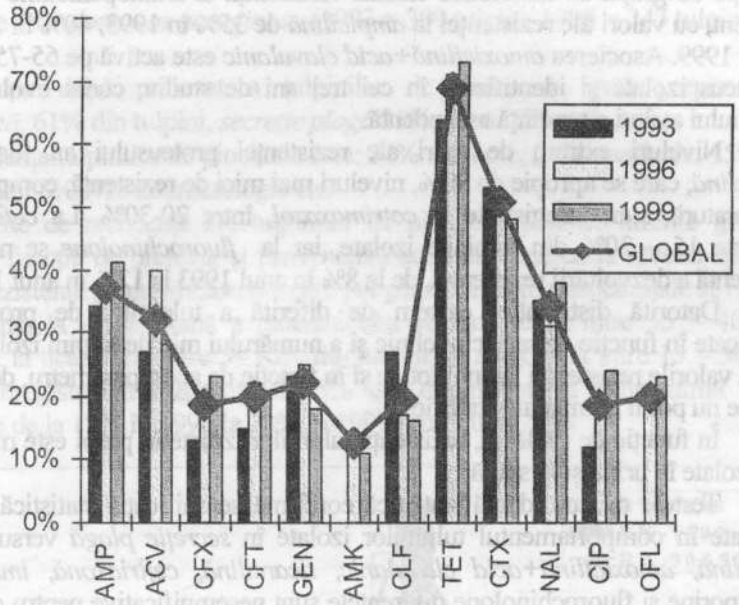
Nivelurile rezistenței la antibiotice diferă în funcție de prelevatul în care a fost izolată tulpina respectivă și serviciul de proveniență. Nivelurile de rezistență ale tulpinilor de colibacil izolate și identificate în ambulatorul spitalului și în alte prelevate decât urina, sunt foarte asemănătoare cu nivelurile raportate în literatura de specialitate din țară și din străinătate pentru tulpinile comunitare. Tulpinile de colibacil selecționate după aceleași criterii, dar provenite din serviciul de traumatologie au niveluri de rezistență mult mai ridicate, ceea ce sugerează tulpini circulante de spital, multirezistente la antibiotice. Diferențele observate au semnificație statistică.

Rezultatele obținute în cadrul acestei anchete arată că tulpinile de colibacil sunt rezistente la antibiotice cu spectru larg, dar sunt rezistente și la antibiotice utilizate numai în spital, cum ar fi aminoglicozidele. Literatura de specialitate consultată subliniază existența din ce în ce mai frecvent în afara spitalelor a tulpinilor rezistente și multirezistente la antibiotice, ceea ce impune supravegherea extrem de atentă a circulației tulpinilor de *Escherichia coli* și caracterizarea cât mai atentă a profilului lor de sensibilitate la antibiotice.

Specia *Klebsiella pneumoniae*

Au fost izolate și identificate 1.179 de tulpini de *Klebsiella pneumoniae*, dintre care 51% în prelevatul urină, 26% în spută, 8% în exudat faringian, 6% în *secreție plagă*, etc.

Nivelurile de rezistență ale tulpinilor de klebsielle izolate sunt destul de ridicate (graficul nr. 6), comparativ cu datele din literatură, mai ales pentru cefalosporinele de generația a III-a (15 – 25%) și pentru fluorochinolone (15 – 30%).



Graficul nr. 6 Rezistenta la antibiotice a tulpinilor de Klebsiella pneumoniae izolate in urina

Cotrimoxazolul este activ doar pe 40-45% din tulpinile izolate şi identificate.

La ampicilină şi amoxicilină+acid clavulanic rezistenţa cunoaşte o dinamică ascendentă, explicabilă prin consumul foarte ridicat al acestor antibiotice, dar şi prin existenţa unor mecanisme complexe de rezistenţă la nivelul klebsiellelor, bazate pe sinteza unor β-lactamaze cu spectru extins.

Trebuie amintită aici şi identificarea în trimestrul al II-lea al anului 1999 a circulaţiei unor tulpini de *Klebsiella pneumoniae* al nivelul serviciului ATI şi implicarea posibilă a acestora în etiologia unor infecţii nosocomiale.

În concluzie, şi pentru acest agent patogen se impune o mai atentă supraveghere a circulaţiei în spital şi definirea cât mai aproape de realitate a profilului rezistenţei la antibiotice.

Specia *Proteus mirabilis*

Genul *Proteus* este reprezentat în studiul nostru de specia *Proteus mirabilis*, fiind izolate şi identificate 358 de tulpini (1993 = 114 tulpini, 1996 = 128 tulpini, 1999 = 116 tulpini).

Prelevatul în care proteusul a fost cel mai frecvent izolat este *urina*, iar prelevatele *secreţie tub de dren, puroi, secreţie plagă* sunt cel mai bine reprezentate în serviciul ATI. Un aspect particular este acela al prezenţei acestui germen în prelevatele *secreţie otică* şi *secreţie nazală*, ştiindu-se că proteusul nu este un patogen al acestor regiuni anatomice.

Comportamentul faţă de antibiotice al tulpinilor de *Proteus mirabilis* este diferit în funcţie de grupa de antibiotice testată. Rezistenţa la aminopeniciline are un caracter ascendent, cu valori ale rezistenţei la *ampicilină* de 35% în 1993, 40% în 1996 şi aproape 50% în 1999. Asocierea *amoxicilină+acid clavulanic* este activă pe 65-75% din tulpinile de proteus izolate şi identificate în cei trei ani de studiu, curba evoluţiei rezistenţei patogenului având o tendinţă ascendentă.

Niveluri extrem de mari ale rezistenţei proteusului au fost observate la *tetraciclină*, care se apropie de 90%, niveluri mai mici de rezistenţă, comparativ cu datele din literatură, sunt înregistrate la *cotrimoxazol*, între 20-30%. La *cefalosporine* sunt rezistente 15 – 20% din tulpinile izolate, iar la *fluorochinolone* se notează tendinţa ascendentă a dezvoltării rezistenţei, de la 8% în anul 1993 la 12% în anul 1999.

Datorită distribuţiei extrem de diferită a tulpinilor de proteus izolate şi identificate în funcţie de serviciul clinic şi a numărului mic de tulpini izolate nu am putut analiza valorile rezistenţei la antibiotice şi în funcţie de acest parametru, deoarece valorile obţinute nu pot fi comparate statistic.

În funcţie de prelevat, rezistenţa tulpinilor izolate în puroi este mai mare decât a celor izolate în urină şi în spută.

Testele de confidenţă statistică confirmă semnificaţia statistică a diferenţelor observate în comportamentul tulpinilor izolate în *secreţie plagă* versus *urină*, pentru *ampicilină, amoxicilină+acid clavulanic, ticarcilină, ceftriaxonă, imipenem*. Pentru cefalosporine şi fluorochinolone diferenţele sunt nesemnificative pentru cele două loturi, aspect care poate fi interpretat ca o expresie a utilizării excesive a acestor două grupe de antibiotice.

Specia *Enterobacter cloacae*

În intervalul luat în studiu au fost izolate şi identificate 916 de tulpini de *Enterobacter cloacae*, 308 tulpini în 1993, 367 tulpini în 1996 şi 241 tulpini în anul 1999.

Prelevatul în care a fost izolat cel mai frecvent germenul este *urina*, care reprezintă 60%, alte prelevate în care a fost izolat fiind *secreţiile genitale, secreţia plagă* etc.

Comportamentul tulpinilor de enterobacter faţă de antibiotice este asemănător cu al celorlalte enterobacterii, aspect explicabil prin contactul germenilor din această familie cu un anume "patern" de antibiotice, utilizat mai ales în tratamentul empiric al infecţiilor urinare, digestive şi/sau pulmonare.

Antibiotice precum *tetraciclina, cotrimoxazolul, amoxicilina* şi, în ultimii ani, *fluorochinolone* sunt extrem de utilizate, fără respectarea protocolului de diagnostic microbiologic şi de testare a comportamentului germenilor identificaţi la antibiotice.

Analiza comparativă a profilului de rezistenţă la antibiotice a tulpinilor de enterobacter izolate şi identificate în prelevatul *secreţie plagă* comparativ cu prelevatul *urină* indică diferenţe statistic semnificative, ceea ce indică circulaţia unor tulpini de spital.

Nivelurile de rezistenţă ale tulpinilor de *Enterobacter cloacae* la ampicilină variază între 30% şi 40%, la gentamicină între 20% şi 30%, la fluorochinolone între 5% şi 15%. Tetraciclina este practic iuntilă în infecţiile cu acest germen, eficacitatea ei fiind raportată doar la 10 – 15% din tulpinile izolate şi identificate.

Specia *Pseudomonas aeruginosa*

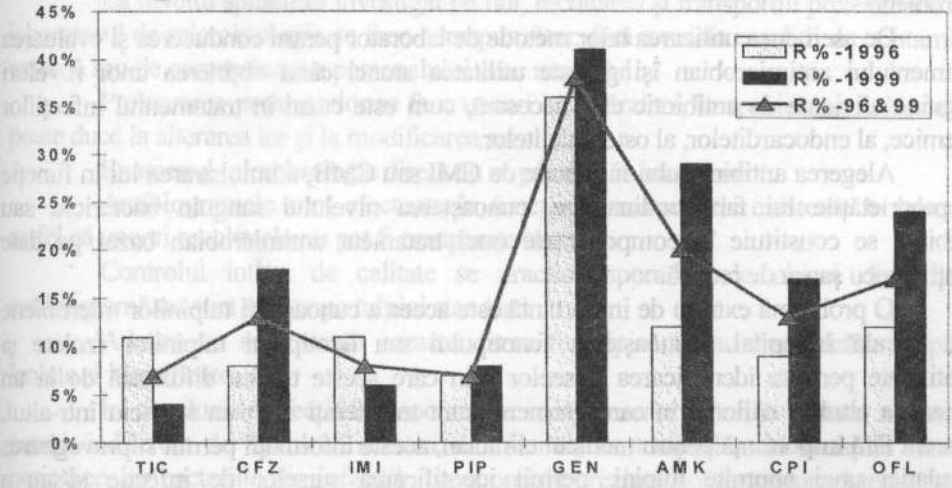
În intervalul luat în studiu în laboratorul spitalului au fost izolate şi identificate 971 de tulpini de *Pseudomonas aeruginosa* (1993 = 309 tulpini, 1996 = 343 tulpini, 1999 = 319 tulpini).

Distribuţia după prelevat a tulpinilor de piocianic arată preponderenţa prelevatului *urină*, 61% din tulpini, *secreţie plagă* 25%, *puroi* 3% etc.

Proveniența tulpinilor de piocianic este: 34% urologie, 21% medicala, 15% ATI, 10% chirurgie, arşi 8%, 4% traumatologie etc.

Nivelurile de rezistenţă ale tulpinilor de piocianic faţă de diferite grupe de antibiotice şi în funcţie de prelevat şi proveniența acestuia arată că la nivelul spitalului circulă tulpini rezistente şi multirezistente care pot genera infecţii nosocomiale severe.

Rezistența la gentamicină a piocianicului se încadrează între 35 – 40% din tulpinile izolate, la ticarcilină între 5- 10% din tulpini, la amikacină între 15 – 30%. La ofloxacină se înregistrează rezistența a 25% din tulpini, iar la ceftazidimă nivelul rezistenţei creşte de la 12% în 1996 la 20% în 1999 (graficul nr. 7).



Graficul nr. 7. Rezistența piocianicului la antibiotice 1996 şi 1999

Rezistența tulpinilor de piocianic în funcţie de prelevatul în care au fost izolate şi identificate sugerează existența unor tulpini care circulă în spital. Astfel, la ticarcilină piocianicul izolat în ambulator este rezistent în proporţie de 4%, iar tulpinile izolate în puroi manifestă rezistență în proporţie de 27%. La ceftazidimă 38% din tulpinile izolate în puroi sunt rezistente comparativ cu doar 4% din tulpinile izolate în ambulator. Diferenţe mai mici comparativ cu cele prezentate anterior, dar tot semnificative din punct de vedere statistic, sunt înregistrate şi la nivelurile de rezistenţă ale tulpinilor de piocianic izolate şi identificate în prelevatul urină.

Discuţii

Fenomenul care este cel mai des citat în literatură şi care influenţează în mod direct starea pacientului este rezistenţa microbiană la antibiotice. Nu de puţine ori în infecţii localizate sau sistemice are loc o "luptă" oarbă între medic şi microorganismul patogen care posedă rezistenţă sau multirezistenţă la antibioticele cu care este "bombardat" de către medic.

Ignorarea etapelor diagnostice, a unor principii terapeutice şi profilactice, duce la administrarea empirică şi chiar haotică a antibioticelor, urmată în mod firesc de eşecul terapeutic. Eşecul terapeutic se datorează de cele mai multe ori necunoaşterii sensibilităţii la antimicrobiene a agentului microbian incriminat.

Profilul de rezistenţă la antibiotice a diferitelor tulpini şi specii bacteriene circulante în spital este un important instrument de lucru pentru clinicieni. El ajută la alegerea cât mai aproape de "realitate" a terapiei antibacteriane de primă intenţie, pe baza datelor statistice furnizate. Acest fapt ar duce la diminuarea perioadei de tratament, de spitalizare, la reducerea cheltuielilor şi la reducerea riscului de apariţie a rezistenţei microbiene.

De asemenea utilizarea unor metode de laborator pentru conducerea şi evaluarea tratamentului antimicrobian îşi găseşte utilitatea atunci când obţinerea unor niveluri sanguine eficiente de antibiotic este necesară, cum este cazul în tratamentul infecţiilor sistemice, al endocarditelor, al osteomielitelor.

Alegerea antibioticului în funcţie de CMI sau CMB, administrarea lui în funcţie de proprietăţile lui farmacodinamice, cunoaşterea nivelului sanguin bactericid sau inhibitor, se constituie în componentele unui tratament antimicrobian bazat pe date ştiinţifice, cu şanse de reuşită.

O problemă extrem de importantă este aceea a cunoaşterii tulpinilor microbiene care circulă în spital. Cunoaşterea fenotipului sau lizotipului tulpinilor izolate şi identificate permite identificarea traseelor prin care aceste tulpini difuzează de la un pacient la altul, a căilor prin care germenii sunt transferaţi dintr-un serviciu într-altul. Aparent fără importanţă pentru medicul clinician, aceste informaţii permit supravegherea circulaţiei unei anumite tulpini, permit identificarea surselor de infecţie şi/sau a rezervorului de germeni, cum ar fi de exemplu purtătorii de stafilococ auriu sau epidermidis din rândul personalului blocului operator sau purtătorii de salmonele sau shigele din rândul personalului auxiliar.

Din păcate, la nivelul spitalului analizat există multe condiţii favorizante ale apariţiei fenomenului de rezistenţă bacteriană la antibiotice.

Condiţiile favorizante sunt:

Condiţii favorizate de clinică: diagnosticul de infecţie este aproape întotdeauna urmat de administrarea de antibiotice, indiferent de starea clinică a pacientului; recoltarea de prelevate pentru examenul microbiologic este de cele mai multe ori amânată sau chiar compromisă din cauza administrării antibioticelor; administrarea profilactică a antibioticelor preoperator.

Condiţii favorizate de laborator: efectuarea antibiogramelor nu este întotdeauna conformă cu metodele standardizate, utilizarea de discuri cu concentraţii diferite de

antibiotic; nu se face identificarea fonotipică, lizotipică etc a tulpinilor izolate; nu se execută controlul intern de calitate, pe tulpini standard; nu se execută controlul extern de calitate.

Condițiilor favorizante apariției și dezvoltării unor tulpini microbiene rezistente și multirezistente la antibiotice li se agaugă lipsa aproape în totalitate a preocupărilor legate de identificarea, supravegherea și controlul infecțiilor nosocomiale.

Privite ca o activitate neesențială, atribut doar al epidemiologilor, supavegherea și controlul infecțiilor nosocomiale este îngreunată de ignorarea sau, câteodată, chiar de opoziția clinicianului la efectuarea unor investigații menite să evalueze impactul acestor infecții asupra pacienților, actului medical, costurilor etc.

Toate aceste considerații sunt fără valoare dacă nu sunt urmate de elaborarea unui plan de acțiune menit să reducă incidența și prevalența infecțiilor nosocomiale în spital.

Concluzii

La nivelul spitalului investigat de noi, recoltarea și transportul prelevatelor către laboratorul de microbiologie se face corespunzător, fără a exista condiții de contaminare externă sau de contaminare a personalului ori a mediului.

Prelucrarea prelevatelor se face uneori cu întârziere, în special în gardă, ceea ce poate duce la alterarea lor și la modificarea rezultatelor.

Examenul microbiologic direct nu se practica în mod curent.

Antibiogramele sunt efectuate în funcție de materialele existente în laborator, astfel că uneori rezultatele nu pot fi comparate între ele.

Controlul intern de calitate se practică sporadic, de obicei discurile de antibiogramă nu sunt testate pe tulpini standard.

Adesea nu se execută caracterizarea fenotipică și/sau lizotipică a tulpinilor izolate și identificate.

În concluzie, infecțiile nosocomiale sunt prezente în orice unitate sanitară cu paturi, indiferent de faptul că acestea sunt sau nu sunt raportate în situațiile statistice periodice, iar bacteriile din infecțiile nosocomiale prezintă polifarmacorezistența față de chimioterapicele antimicrobiene și sunt un risc permanent în toate spitalele, în special în cele care nu recunosc prezența acestora.

Bibliografie

1. BÂLBAIE V., POZSGI N. "Bacteriologie medicala" Vol. 1 si 2, Ed. Medicala, Bucuresti 1984
2. GLASBY J.S. "Encyclopedia of Antibiotics" ed. 3-a, Editura Wiley, 1992
3. IONICA M., ORDEANU V. "ABG-95" pachet de programe informatice, MApN/DM/CCSMM, Bucuresti, 1995.
4. ORDEANU V., IONICA M. "Computerized study of pathogens germs rezistance dynamics to therapeutical use of antimicrobial substances" Romanian Conference on Medical Informatics, Bucuresti 3-5 nov. 1995
5. ORDEANU V., IONICA M. "Computerized study of pathogens germs resistance dynamic" First

Congress of Balkan Military Medicine, Istanbul, Turcia, 9-11 mai 1996
6. PAUL F. "Teza de Doctorat in medicina" UMF Carol Davila, Bucuresti, 2001
7. STROESCU V. "Medicamentele esentiale" Ed. Medicala, Bucuresti, 1994
8. VOICU V., ORDEANU V., IONICA M. "Sistem computerizat pentru evidenta sensibilitatii germenilor patogeni la substante antimicrobiene" Revista de medicina militara, nr. 2-3, 1994, p.91-97.
9. VOICULESCU M. "Bolile infectioase" vol.1 si 2, Ed.Medicala, Bucuresti, 1990
10. *** "Farmacopeea Romana" ed. X, Ed. Medicala, Bucuresti, 1993
11. *** "BIOS" Institutul Cantacuzino, Bucuresti, 1977
12. *** "The Merck Manual" ed.16/1992, Ed. Merck & Co. Inc. N.J., U.S.A. 1993
13. *** "Metode de laborator" Ministerul Sanatatii/Academia de Stiinte Medicale, Ed. Medicala, Bucuresti 1977

ANTIBIOTICELE ŞI REZISTENŢA BACTERIANĂ

Cristina Vlase
S.C. Antibiotice S.A., Iaşi

Abstract
Just a few short years after penicillin was first marketed, researchers observed the emergence of a penicillin resistant strain of *Staphylococcus aureus*. Less then 25 years later, strains of gonorrhea and salmonella were added to the resistance list. Today, antimicrobial resistance has become a very serious public health concern with global economic, social and political implications.
Infections that been readily treatable by chemotherapy may no longer be and it is clear that the evolution and spread of resistance can be attributed to the use of antibiotics.
Now we know that the antibiotics drug resistance is a complex problem and a plague of tomorrow. Today our cache of antimicrobial weapons includes an impressive arsenal of more than 150 compounds that are used in the war against infectious bacteria, fungi, protozoa and viruses. That's why it is very important to develop strategies to reduce and/ or prevent bacterial resistance.
The paper presents some aspects concerning bacterial resistance:

- relationship between antibacterial agents and bacterial resistance;
- mechanisms of resistance;
- resistant bacteria;
- β-lactamase resistance;
- fluoroquinolone resistance;
- strategies to combating bacterial resistance;
- economic and biological impact of antibiotic resistance.

Dezvoltarea patogenilor rezistenţi la agenţii antimicrobieni constituie o problemă globală şi complexă, accelerată de utilizarea excesivă a antibioticelor precum şi de transmiterea rapidă a rezistenţei la microorganisme.Deşi ultima jumătate a secolului trecut a însemnat un progres remarcabil în lupta cu bolile de natură infecţioasă, în prezent, problema rezistenţei bacteriene constituie o ameninţare globală, urmare a faptului că viteza de creştere şi de răspândire a bacteriilor rezistente este mult mai mare decât cea a descoperirii de noi agenţi eficienţi împotriva acestora. În 2001, în ţările dezvoltate ca şi în spitale, 60% din infecţii s-au datorat bacteriilor rezistente.

Rezistenţa bacteriană are numeroase consecinţe. În plan social, tratarea pacienţilor infectaţi cu microbi rezistenţi necesită un timp mai lung de spitalizare, riscul de deces este mai mare, iar tratamentele se fac cu medicamente mai scumpe.

Rezistenţa la antibiotice nu este însă un fenomen nou. Rezistenţa la

penicilină a fost evidenţiată încă din 1940 la germeni de *E.coli* şi în 1944 la specii de *Staphylococcus aureus* (tabelul 1). Astăzi este unanim recunoscut faptul că bacteriile dezvoltă rezistenţă mai devreme sau mai târziu faţă de orice antibiotic (tabelul 2).

Tabelul 1. Identificarea rezistenţei bacteriene la diverse antibiotice (Williamson J.S, C.M. Wyandt, 2001)

Antibiotic	An descoperire	An utilizare clinică	An identificare rezistenţă
penicilină	1929	1943	1940
streptomicină	1944	1947	1947
tetraciclină	1948	1952	1956
vancomicină	1956	1972	1987

Tabelul 2. Creşterea rezistenţei bacteriene ca efect al utilizării antibioticelor

Bacterie	Rezistenţă	An	%	An	%
M. tuberculosis	multiplă[1]	1981	0,6	1995	1,2
S.aureus(MRSA)	meticilin	1990	2,2	1996	13,7
Enterococi	vancomicină	1989	0,4	1995	10,8
S.pneumoniae	penicilină	1989	0,3	1995	2,9
	eritromicină	1989	3,3	1995	10,9
Klebsiella	ceftazidim	1989	2,7	1994	5,7
	ciprofloxacin	1989	2,9	1994	6,5
S.typhimurium	multiplă[2]	1985	6,0	1996	>70
	ciprofloxacin	1994	1,0	1996	12

1. isoniazidă, rifampicină, etambutol
2. ampicilină, cloramfenicol, sulfamide, tetraciclină.

Incidenţa bacteriilor este variabilă de la ţară la ţară, în funcţie de schemele terapeutice aplicate:

INCIDENŢA MRSA ÎN DIFERITE ZONE DIN LUME
(Statistic Division of the Department of Health UK, 2001)

Zonă/Ţară	% MRSA
Scandinavia, Olanda	<1%
USA	28
Marea Britanie	32
Belgia	40
Japonia, Corea	70

REZISTENȚA LA PENICILINĂ A TULPINILOR DE STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE ÎN CÂTEVA ȚĂRI EUROPENE.

(Statistic Division of the Department of Health UK, 2001)

Țară	*An*	*% Rezistență*
Italia	1993	0,8
Belgia	1983-88	1,5
Finlanda	1988-90	1,9
Germania	1979-80	6,8
Islanda	1991	9,6
România	1991	25,0
Spania	1989	44,3
Ungaria	1988-89	57,8

Ultimele decade ale secolului trecut s-au caracterizat prin apariţia de bacterii cu rezistenţă multiplă. Se cunosc bacterii rezistente la mai mult de 10 antibiotice diferite.

Deşi cele mai multe astfel de microorganisme sunt germeni „de spital", bacterii ca *M.tuberculosis*, *E.coli*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pn.*, *Proteus* spp., *Shigella* spp., *Pseudmonas* spp., provoacă şi infecţii comunitare importante, cu incidenţă importantă asupra stării de sănătate a populaţiei. Astfel de bacterii sunt de cele mai multe ori rezistente la tratamentele uzuale.

BACTERII POTENȚIAL REZISTENTE LA TRATAMENTELE UZUALE

(Kennedy, 2001,a)

	Organism	*Medicamente față de care se poate manifesta rezistența*
Infecții comunitare		
Gram-pozitivi	*Streptococcus pn.*	Penicilină, macrolide, fluorochinolone şi RM
	Streptococcus pyogenes	Macrolide
Gram-negativi	*Neisseria gonorrhoea*	Penicilină, fluorochinolone(în unele țări)
	Neisseria meningitidis	Penicilină
	Haemophilus influenzae	Ampicilină, ciprofloxacină
	Moraxella catarrhalis	Ampicilină
	Escherichia coli	Ampicilină, trimetoprim, fluorochinolone
	Salmonella spp.	Fluorochinolone şi RM
	Campylobacter spp.	Fluorochinolone şi RM
	Shigella spp.	Fluorochinolone şi RM
Mycobacteria	*Mycobacterium tiberculosis*	Isoniazidă, rifampicină şi RM
Infecții de spital		
Gram-pozitivi	*Staphylococcus aureus*	Meticilină (MRSA)şi RM(inclusiv la vancomicin)
	staphylococci Coagulase-negative şi Enterococci	Vancomicină
Gram-negativi	*Klebsiella pn.*şi *Klebsiella oxytoca*	Cefalosporine, aminoglicozide, fluorochinolone şi RM
	Alte Enterobacteriaceae inclusiv	Cefalosporine, aminoglicozide,

E.coli, Serratia spp., *Proteus* spp şi *Enterobacter* spp	fluorochinolone şi RM
Pseudomonas aeruginosa şi alte specii de *Pseudomonas*	Cefalosporine, aminoglicozide, fluorochinolone,carbapeneme şi RM
Acinetobacter baumanii	Cefalosporine, aminoglicozide, fluorochinolone carbapeneme şi RM

RM=rezistenţă multiplă

Cauzele răspândirii rapide a rezistenţei sunt:

- utilizarea necorespunzătoare a antibioticelor de către pacienţi, care opresc tratamentul imediat după dispariţia simptomelor, înainte ca infecţia să fie eradicată;
- utilizarea excesivă a antibioticelor în medicaţia veterinară şi ca stimulatori de creştere, în agricultură şi aquacultură, precum şi a agenţilor antibacterieni şi a dezinfectanţilor în cosmetice;
- utilizarea intensivă a antibioticelor, ceea ce are ca efect creşterea vitezei cu care bacteriile suferă mutaţii;
- circulaţia liberă şi rapidă care permite răspândirea germenilor rezistenţi.

Principalele mecanisme prin care bacteriile devin rezistente sunt (Walsh, 2000):

- Inactivarea antibioticului
- Alterarea ţintei antibioticului/Superproducţia
- Reducerea acumulării de antibiotic
  - –împiedicarea absorbţiei
  - –intensificarea efluxului
- Ocolirea căii de acţiune al antibioticului.

Mecanismele rezistenţei bacteriene diferă în special în funcţie de structura antibioticului:

Inactivare	***Alterarea ţintei***	***Reducerea acumulării***	***By-pass***
β-lactame	β-lactame	tetraciclină	trimetoprim
cloramfenicol	streptomicină	β-lactame	sulfonamide
aminiglicozide	cloramfenicol	cloramfenicol	
	eritromicină	chinolone	
	chinolone	aminoglicozide	
	rifampicină		

Rezistenţa la antibiotice poate fi (Levy, 1998):

Rezistenţă intrinsecă

- particularităţi inerente ale speciei care previn acţiunea antibioticului;
- uzual formulate ca gene cromozomale.

Exemplu: Beta-lactamazele bacteriilor gram-negative inactivează antibioticele beta-lactamice.

Rezistenţă dobândită (Kennedy, 2001) se datorează:

- speciilor rezistente care apar din populaţii anterior sensibile cauzate de mutaţii ale genelor cromozomale (frecvenţa mutaţiilor spontane este de 10^{-7});

Exemplu: rezistenţa *E.coli* la acid nalidixic cauzată de mutaţii la proteina

GyrA
•primirii de plasmide sau transpozoni.

Transpozonii
•Sunt elemente genetice mobile capabile să se transfere (transpună) din AND-ul unei molecule la altă moleculă.
•Nu sunt capabili să se reproducă;
•Secvenţele modificate sunt recunoscute însă de către enzime.

Plasmidele
• Sunt elemente extracromozomale genetice care se reproduc independent;
• Sunt mobile prin conjugare;
• Transportă gene rezistente la antibiotice; o singură plasmidă poate transporta mai mult de 7 gene rezistente diferite;
• În absenţa antibioticului plasmidele se pierd printre celulele majoritare;
• Expunerea la antibiotic are ca efect omorârea celulelor sensibile şi mobilizarea plasmidelor.

Luând în considerare mecanismele de manifestare, tipurile de rezistenţă bacteriană cele mai întâlnite la antibioticele uzuale sunt următoarele:

Antibiotic	**Tip de rezistenţă**
Sulfamide	• Prin *enzime mediate cromozomal*: hiperproducţie de enzime; mutaţii ale dihidropteroatsintetazei(DHPS) • Prin *enzime mediate plasmidic*: duplicarea enzimei DHPS; acţiunea sulfamidelor este de 10.000 ori mai puţin eficientă.
Chinolone	• Numai prin *enzime mediate cromozomal*; mutantul *gir*A conferă rezistenţă la acid nalidixic, *gir*B conferă rezistenţă la acid nalidixic şi ciprofloxacină. Prin substituirea unor aminoacizi se reduce afinitatea chimioterapicului; *mecanism de pompă de eflux.*
Rifampicină	• Numai prin *enzime mediate cromozomal*; acţiunea se manifestă prin alterarea AND-ului.
Aminoglicozide	• *Efect de împiedicare a absorbţiei* prin modificarea enzimatică a antibioticului. -Prin *enzime mediate plasmidic/transpozoni.* -Trei clase de enzime: acetiltransferază(AAC),adenil-transferază(AAD), fosfotransferază(APH), subdvizate în mai mult de 30 tipuri funcţie de locul unde acţionează.

Cloramfenicol • Prin *enzime mediate plasmidic/transpozoni* (cloramfenicol actil transferaze, Cat). Cat conduce la acetilarea cloramfenicolului, prevenind în acest fel legarea antibioticului de ribosomi.
• Prin *efect de împiedicare a absorbţiei;* plasmide codificate *cml* conţinând o proteină care reduce absorbţia antibioticului.

Tetraciclină • Prin *enzime mediate plasmidic/transpozoni*
• Prin *mecanism de pompă de eflux.*

Vancomicină • Enterococii rezistenţi la vancomicină *induc sinteza de enzime* D-Ala-D-Lac, insensibile la acţiunea antibioticului.
• Prin *transpozoni.*

Beta-lactame • Prin *reducerea permeabilităţii*; alterarea porilor din membrana externă modifică permeabilitatea.
• Prin *alterarea enzimei-ţintă* (PBP-urile implicate în ansamblul peretelui bacterian).
• Prin *inactivare enzimatică* (prin beta-lactamaze).

Inactivarea prin beta-lactamaze constituie principalul mecanism de rezistenţă la izolatele clinice. Beta-lactamazele atacă ciclul beta-lactamic, prin scindarea acestia producându-se inactivarea antibioticului (figura 1):

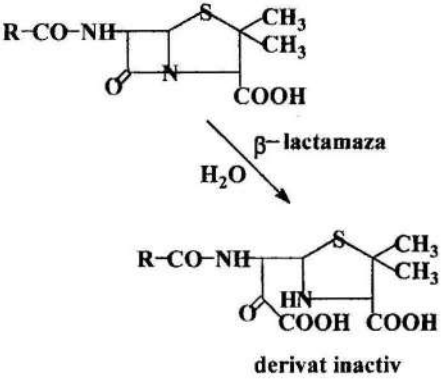


Fig. 1. Inactivarea antibioticelor β-lactamice prin desfacerea ciclului sub acţiunea beta-lactamazelor

Beta-lactamazele sunt foarte numeroase; ele au fost divers clasificate funcţie de numărul de aminoacizi, masa moleculară, punctul izoelectric, secvenţa de aminoacid din centrul activ. Cele mai uzuale clasificări sunt prezentate în cele ce urmează:

CLASIFICAREA BETA-LACTAMAZELOR

(Bush, Jacoby, Medeiros)

(Ministry of Health UK, Consens Guidelines for the Management of Infections, 2000)

Ambler	*Bush*	*Caracteristicile beta-lactamazelor*	*Nr. enzime*
C	1	Uzual enzime cromozomale la gram-negativi; unele sunt mediate plasmidic. Nu sunt inhibate de acidul clavulanic.	51
A	2a	Penicilinaze stafilococice şi enterococice	23
	2b	Beta-lactamaze cu spectru larg incluzând TEM-1 şi SHV-1, mai ales la gram-negativi	16
	2be	Beta-lactamaze cu spectru extins	119
	2br	Beta-lactamaze rezistente la inhibitori	24
	2c	Enzime care hidrolizează carbenicilina	19
	2d	Enzime care hidrolizează cloxacilina (oxacilina)	31
	2e	Cefalosporinaze inhibate de acidul clavulanic	20
	2f	Enzime care hidrolizează carbapenemele, inhibate de acidul clavulanic	4
B	3	Metalo-enzime care hidrolizează carbapenemele şi alte beta-lactame, cu excepţia monobactamelor. Nu sunt inhibate de acidul clavulanic.	24
D	4	Diferite enzime care nu se regăsesc în alte grupe.	9

EVOLUŢIA BETA –LACTAMAZELOR:

•Extinderea rezistenţei la cefalosporinele de generaţia a-III-a;

•Diversificarea beta-lactamazelor cu spectru extins (ex. Ctx-1) care dezvoltă rezistenţă la cefalosporine, cefamicine, fluorochinolone, aminoglicozide, asocieri de beta-lactame cu inhibitori de beta-lactamază.

IMPACTUL REZISTENTEI BACTERIENE:

•Ameninţarea importantă în terapie se datorează rezistenţei dobândite mai mult decât rezistenţei intrinseci.

•Tratamentul cu orice antibiotic poate deveni ineficient. Exemple:

–sulfamidele pentru meningită;

–ampicilina pentru infecţii produse de H.influenzae;

–"doze mici" de penicilină pentru gonoree;

–ampicilina pentru infecţii de spital cu E.coli.

•Multe bacterii sunt rezistente la aproape toate antibioticele utilizate clinic.

•Vancomicina este adesea unicul antibiotic util în astfel de cazuri.

–rezistenţa la vancomicină a fost raportată la enterococi.

STRATEGII PENTRU CONTRACARAREA REZISTENŢEI:

•Cercetarea şi descoperirea de noi antibiotice, inclusiv prin studii de genom;

•Mărirea vieţii antibioticelor prin utilizarea de asociaţii de antibiotice cu inhibitori enzimatici, cum ar fi asociaţiile beta-lactamelor cu acidul clavulanic şi sulbactama;

•Limitarea utilizării antibioticelor

–utilizarea antibioticelor cu potențial mare numai atunci când este nevoie de ele;

–rotația și combinarea antibioticelor încurajează pierderea rezistenței.

•Prevenirea rezistenței încrucișate între pacienții din spitale.

•Abordarea managerială la scară universală a problemei rezistenței bacteriene:

-implementarea unei supravegheri riguroase a organismelor rezistente;

-o educare mai bună a lucrătorilor în domeniul sănătății legată de utilizarea adecvată a antibioticelor și cunoașterea raportului risc/beneficiu;

-sistarea vânzărilor de antibiotice fără prescripție medicală.

-monitorizarea atentă a antibioticelor utilizate la animale și culturi.

Recomandări pentru contracararea fenomenului de rezistență bacteriană:
(Cookson J., 2000)

•Membrii UE trebuie să recunoască faptul că fenomenul de rezistență bacteriană a devenit o problemă globală;

•Companiile farmaceutice să fie încurajate să cerceteze și să dezvolte noi agenți antibacterieni;

•Dezvoltarea unui sistem european de supraveghere a microorganismelor rezistente;

•Monitorizarea aprovizionării și consumului de agenți antimicrobieni în Europa și individual în fiecare țară;

•Adoptarea de măsuri pentru utilizarea cu prudență a antibioticelor;

•Coordonarea la nivel național și european a cercetărilor privind rezistența bacteriană;

•Verificarea progreselor realizate ca urmare a aplicării acestor recomandări.

Una din strategiile de contracarare a rezistenței bacteriene este descoperirea și dezvoltarea de noi agenți antibacterieni cu eficiență terapeutică ridicată și toxicitate redusă (introducerea în terapie a unor noi antibiotice mai eficiente); se estimează că piața agenților antiinfectioși va crește de la 22,3 miliarde dolari în 2001 la 34,5 miliarde dolari în 2006, o creștere cu 9,1%, creșterea vânzărilor datorate noilor medicamente antiinfecțioase fiind de peste 50% (fig.2) (www.bccresearch.com).

Se estimează că în perioada 2001-2006 vor apărea pe piață cca. 40 noi produse farmaceutice cu antibiotice.

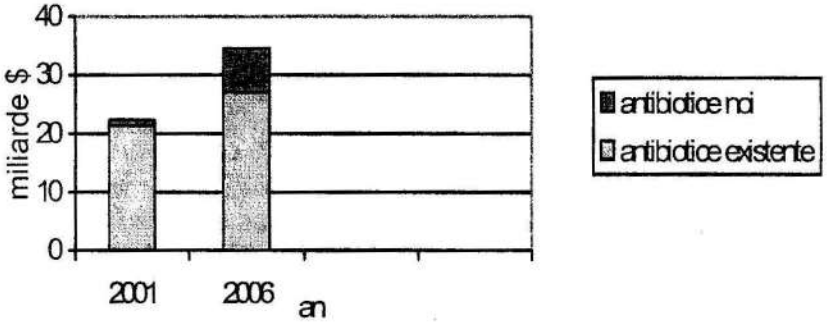


Fig. 2. Prognoza privind vânzările de antibiotice

Food and Drug Administration a aprobat recent următoarele antibiotice:

•gatifloxacin (Tequin™, Bristol-Myers Squibb) (1999)

•moxifloxacin (Avelox ™, Bayer) (1999)

•linezolid (Zyvox®, Pharmacia)(2000)

•quinupristin-dalfopristin (Synercid®,Rhone-Poulenc Rorer)(2000)

•atovaquone-proguanil (Malarone®) (2000)

•ertapenem(2001)

•cefditoren (2001)

•daptomycin (Cidecin®, Cubist Pharmaceuticals)(2002)

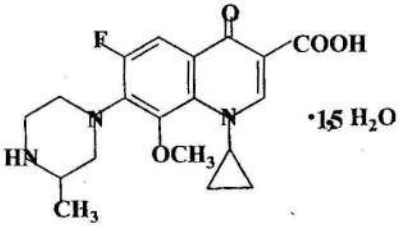
Deşi aceste produse sunt foarte scumpe, iar unele au efecte secundare importante, reprezintă o alternativă în tratarea infecţiilor cu germeni rezistenţi care nu mai răspund la nici un alt tratament, în special a bacteriilor Gram-pozitive cu rezistenţă multiplă: stafilococi, pneumococi penicilino-rezistenţi, enterococi vancomicino-rezistenţi.

CHINOLONE

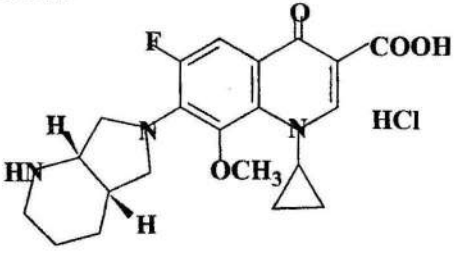
(Kennedy, 2001,b)

Acţiune: inhibitori ai sintezei acizilor nucleici

1. Clinafloxacin	Spectru larg, activitate faţă de bacteriile Gram+ şi Gram-; activitate similară ciprofloxacinei faţă de *P.aeruginosa*;
2. Gatifloxacin	Spectru larg, inclusiv faţă de bacteriile Gram+;(US)
3. Gemifloxacin	Spectru larg, inclusiv faţă de bacteriile Gram+;
4. Moxifloxacin	Spectru larg, inclusiv faţă de bacteriile Gram+;(US)
5. Sparfloxacin	Spectru larg, inclusiv faţă de bacteriile Gram+;(US)
6. Trovafloxacin	Activitate pe Gram+, Gram- şi anaerobi; hepatotoxicitate(US)
7. Sitafloxacin	În studii clinice. Activitate pe Gram+, Gram- şi anaerobi;
8. Altele	Tosufloxacin, pazufloxacin.



gatifloxacin (Tequin™, Bristol-Myers)
•comprimate (200, 400 mg),
•soluţie injectabilă i.v.(20 ml, 40 ml).



moxifloxacin (Avelox ™, Bayer)
•comprimate 400 mg

OXAZOLIDINONE

Acţiune: inhibitori ai sintezei de proteine

•Linezolid (Zyvox®, Pharmacia Upjohn):

–activ faţă de bacteriile Gram-pozitive(inclusiv MRSA), pneumococi penicilin-rezistenţi, streptococi macrolid-rezistenţi, enterococi vancomicin-rezistenţi;

–activitate redusă faţă de bacteriile Gram-negative;

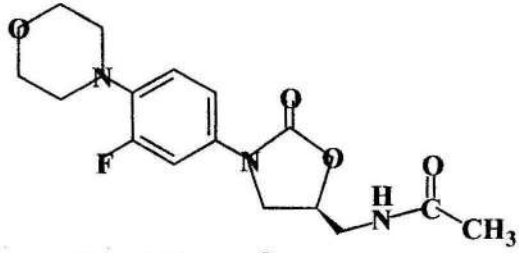
–biodisponibilitate 100%;

–bacteriostatic;

–inhibitor reversibil neselectiv ai monoaminooxidazei (MAO) şi poate interacţiona cu agenţii adrenergici şi serotonergici;

–teste clinice: tratare pneumonii nosocomiale şi infecţii complicate ale pielii şi ţesuturilor moi; toleranţă bună.

–datorită mecanismului diferit de acţiune faţă de alţi agenţi antibacterieni, nu este aşteptată apariţia rezistenţei încrucişate.



linezolid (Zyvox®)

•comprimate 400 mg, 600 mg

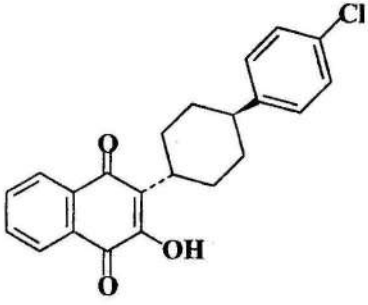
•suspensie orală 100 mg/5 ml

•inj. i.v. 100 ml(200 mg), 300 ml(600 mg).

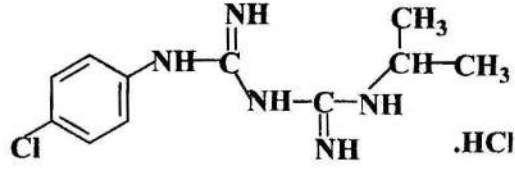
•atovaquonă-proguanil (Malarone®)

Antimalaric.

Administrare: orală. Comprimate (250mg+100 mg);
(62,5 mg +25 mg).•



Atovaquone



Proguanil clorhidrat

LIPOPEPTIDE

Mecanism unic de acţiune; bactericide.

•***Daptomicina*** **(Cidecin®, Cubist Pharmaceuticals)** este primul produs dintr-o nouă clasă de medicamente denumite lipopeptide şi a fost dezvoltat pentru tratarea infecţiilor severe cauzate de patogenii Gram-pozitivi.

A fost testat pentru vindecarea următoarelor tipuri de infecţii (testare clinică-faza a-III-a):

–infecţii complicate ale pielii şi ţesuturilor moi;
–pneumonii;
–infecţii urinare severe;
–infecţii cu Enterococi vancomicin-rezistenţi;
–Endocardite.

• ***Ramoplanina***. Produs cu toxicitate mare ceea ce limitează utilizarea; numai administrare topică.

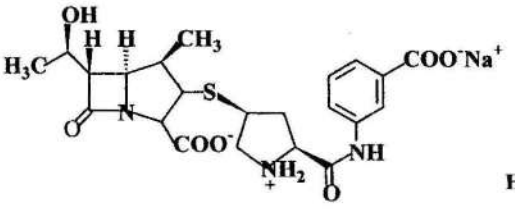
BETA-LACTAME

•***ertapenem (Invanz™) (Merck)***

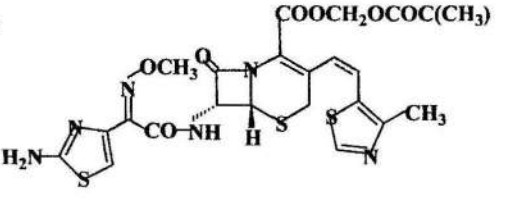
Administrare i.m. şi i.v. (în doze de 1 g).

•***cefditoren pivoxil(Spectracef™)***

Administrare orală (200 mg).



ertapenem



cefditoren pivoxil

MEDICAMENTE ÎN CERCETARE

(Garvey, 2000, Lomaestro. 2001, Ann. Intern. Med. 1999, www.infektiofoorumi.fi, www.bentham.org)

INHIBITORI AI SINTEZEI ACIZILOR NUCLEICI

•***Fluorochinolone: WCK771A,WCK919.***

•***Nitroimidazoli***-Testaţi ca potenţiali agenţi antituberculoşi;

•***Rifamicine. Rifaximin:*** antibiotic gastrointestinal cu spectru larg.

INHIBITORI AI SINTEZEI DE PROTEINE

•***Ketolide.Telithromycin(Ketek),*** în studii clinice, faza a-III-a.

•***Oxazolidinone. AYD2563*** (Astra-Zeneca); în studii clinice, activitate pe Gram-pozitivi.

INHIBITORI AI SINTEZEI DE PEPTIDOGLIGAN

•***Beta-lactame. Cefalosporine în studii preclinice:***

-BMS-247243 (spectru larg)

-S-3578 (spectru larg).

•***Glicopeptide. LZ333328***

INHIBITORI DE BETA-LACTAMAZE

•***Oxapeneme. AM-112 sinergic cu ceftazidima*** (studii clinice faza I)

INHIBITORI DE PEPTID-DEFORMILAZĂ

•***O nouă clasă de compuşi, care acţionează prin inhibarea de metalo-enzime esenţiale. BB83698(British Biotech Ph.)*** bactericid, cu efect post-antibiotic >6 ore (studii clinice faza I).

TENDINŢE

•Rezistenţa se va extinde şi va evolua;

–Răspândirea inevitabilă a tulpinilor vancomycin-rezistente;

–Dezvoltarea rezistenţei la carbapeneme;

–Dezvoltarea la chinolone a rezistenţei asociate plasmidelor

–Răspândirea beta-lactamazelor cu spectru extins.

•Bacteriile îşi vor dezvolta noi mecanisme de rezistenţă.

–În ultima decadă au apărut deja noi mecanisme genetice: *formarea de gene mozaic* şi *integroni*, care facilitează răspândirea rezistenţei.

Concluzii

•Rezistenţa bacteriană este un proces în continuă dezvoltare.

•Problema rezistenţei bacteriene reclamă o monitorizare atentă locală şi globală.

•Limitarea fenomenului se poate realiza atât prin utilizarea de noi antibiotice, cât şi printr-o judicioasă utilizare a celor existente.

Bibliografie

1. *Ann.Intern. Med., 1999, 130:155-7
2. COOKSON J., European Microbial Threat Meeting, J.Clin.Pathol., 2000, 53:66-70
3. GARVEY R., ACS 22-th Drug, 2000, Rep 9, 1-5
4. KENNEDY N., Proc.R.Coll.Physicians Edinb., 2001; 31:96-111(a)
5. KENNEDY N., Drugs for difficult., Proc. R.Cell Physicians Edinb., 2001, 31:96-111 (b)
6. LEVY S.B., The Challenge of Antibiotic Resistance, Scientific American, 1998, 32-9

7. LOMAESTRO B.M., A potpourri from the Pipeline, 41-Interscience Conf. on Antimicrob.
8. Agents and Chem, 2001
9. *Ministry of Health UK, Consens Guidelines for the Management of Infections, 2000Walsh C., Molecular mechanism that confer antibacterial drug resistance, Nature,
11. 406, 200, 775-81.
12. WILLIAMSON J.S., C.M.Wyandt, Trends in Pharmacy and Pharmaceutical care, Drug Topics, 2001, 55-64.
13. www.infektiofoorumi.fi
14. www.bentham.org
15. www.bccresearch.com

REZISTENȚA BACTERIANĂ ÎN INFECȚIILE URINARE INTRASPITALICEȘTI CU BACTERII GRAM NEGATIVE

C. Militaru[1], V. Militaru[2], E. Chiorean[3], V. Cristea[4]
[1]*Universitatea de Medicină si Farmacie "Iuliu Haţieganu", Catedra de Farmacologie şi Toxicologie*
[2]*Clinica Medicală V*
[3]*Clinica Medicală III*
[4]*Catedra de Imunopatologie, Clinica Medicală III, Cluj-Napoca*

Abstract
The sensitivity and resistance of bacteria to antibiotics are determined by several factors, including the selection pressure exerted by antibiotic therapy.
Aim of study.
This paper aims to evaluate the sensitivity and the resistance to antibiotics of the bacteria involved in urinary tract infections (UTI) and to compare it with the data found in the medical literature.
Materials and method.
We studied the bacterial cultures of 1100 urine samples taken from patients hospitalized in an internal medicine department in the period August 1999-July 2000. The analysis were performed in the bacteriology laboratory of the Medical Clinic 3 in Cluj-Napoca, Romania. The antibiograms were realised using the diffusion method. This is a retrospective study, using the evidence from the laboratory records.
Results and discussions.
Out of the 1100 urine samples, in 716 was present *E.coli* (65.09%), in 162 - *Pseudomonas aeruginosa* (14.73%), in 136 - *Klebsiella* (12.36%), in 61 - *Proteus vulgaris* (5.55%), in 21 - *Proteus mirabilis* (1.91%) and in 4 samples *Enterococcus* (0.36%).
E.coli isolated from the 716 cultures was sensitive in the greater proportion (81.70%) at Colimycin, followed by Nitrofurantoin (72.35%), Cefotaxim (68.38%), Ofloxacin (67.60%) and Nalidixic Acid (62.85%), for the rest of the drugs the sensitivity being under 50%. The greatest resistance was at Streptomycine (25.56%), Amoxycillin (13.27%) and Ceftriaxone (11.72%).
Pseudomonas aeruginosa was sensitive mainly at Colimycin (86.42%), Imipenem (33.33%) and Ceftazidime (31.07%). The greatest resistance was at Amikacin (8.64%).
Klebsiella was sensitive at Colimycin (82.35%), Nalidixic Acid (58.09%) and Ofloxacin (52.91%). The highest resistance was at Amoxycillin (11.76%) and Streptomycine (10.29%).
Proteus vulgaris was sensitive at Ofloxacin (65.57%) Nalidixic Acid (54.10%) and resistant to Streptomycine (18.03%).

Conclusions.
In hospital environment Gram-negative bacteria show a greater and greater resistance to a large scale of antibiotics. For the cultures we studied, we found an increased resistance to Streptomycine, Amoxycillin, Ceftriaxone and Amikacin. It is better to direct the antibacterial treatment of UTI according to antibiograms, given the dynamics of bacterial resistance.

Este un fapt cunoscut acela că rezistența și sensibilitatea bacteriană la antibiotice sunt fenomene dependente de o multitudine de factori, între care mecanismele de acțiune ale antibioticelor, genomul bacteriei (cromozomial și extracromozomial), mecanismele enzimatice de inactivare a antibioticelor, condițiile locale (care țin de organul sau țesutul infectat), asocierea de chimioterapice bacteriostatice, precum și de alti factori (Stroescu, 2001). O condiție importantă care determină rezistența și sensibilitatea bacteriană este presiunea de selecție exercitată de antibiotice, în special de cele utilizate frecvent. Există multiple exemple prin care medicamente antibacteriene inițial foarte eficiente, chiar în doze relativ mici, asupra unor bacterii, și-au pierdut utilitatea clinică, fie prin apariția rezistenței bacteriene, fie prin necesitatea utilizării unor doze foarte mari, la care apar mai frecvent efectele adverse (Matinca, 2002).

Scopul lucrării.

Studiul de față își propune evidențierea principalilor agenți patogeni implicați în apariția infecțiilor urinare, determinarea sensibilității și rezistenței acestora la antibiotice (în special a bacteriilor gram-negative), precum și realizarea unei comparații cu informațiile din literatura de specialitate.

Material și metodă.

Acesta este un studiu de tip retrospectiv, pentru realizarea căruia au fost utilizate datele existente în registrele laboratorului Clinicii Medicale III din Cluj-Napoca. S-au luat în lucru 1100 uroculturi, recoltate de la bolnavi internați în această clinică în perioada august 1999-iulie 2000. Nu au fost luate în studiu uroculturile din care s-au izolat mai multe microorganisme, acestea fiind de altfel în număr foarte mic, pentru a se evita posibilii factori de confuzie în realizarea prelucrării statistice. Analizele au fost efectuate în laboratorul de bacteriologie al clinicii, antibiogramele fiind realizate prin metoda difuzimetrică. Pentru fiecare bacterie identificată într-o urocultură a fost testată sensibilitatea la o baterie de antibiotice, care a depins de microorganismul respectiv. Pentru fiecare antibiotic astfel testat și pentru fiecare bacterie a fost calculat procentul de cazuri în care bacteria a fost sensibilă și procentul de cazuri în care a fost rezistentă, realizându-se o "ierarhie" a principalelor sensibilități și rezistențe. În final s-a realizat o comparație a rezultatelor proprii cu cele ale altor autori.

Rezultate.

Principalii agenți etiologici implicați în producerea infecțiilor urinare au fost: *E.coli* (716 cazuri - 65,09%), bacilul piocianic (162 cazuri - 14,73%), *Klebsiella* (136 cazuri - 12,36%), *Proteus vulgaris* (61 cazuri - 5,55%), *Proteus mirabilis* (21 cazuri - 1,91%) și *Enterococ* (4 cazuri - 0,36%).

Procentul cel mai mare de sensibilitate a E.coli a fost pentru Colimicin (81,70%), urmat de Nitrofurantoin (72,35%), Cefotaxim (68,38%), Ofloxacin (67,60%) și Acidul nalidixic (62,85 %), restul antibioticelor având un procent de sensibilitate sub 50%. Cel mai mare procent de rezistență a E.coli a fost pentru Streptomicină (25,56%), urmată de Amoxicilină (13,27%), Ceftriaxonă (11,72%), Ampicilină (6,98%) și Amikacină (5,89%), restul antibioticelor având un procent de rezistență sub 5%. În tabelul 1 pot fi urmărite sensibilitatea și rezistența E.coli față de toate antibioticele pentru care s-a testat.

Tabelul 1. Sensibilitatea și rezistența *E.coli* la diferite antibiotice.

	Sensibilitate		Rezistență	
	Nr.	%	Nr.	%
S (Streptomicină)	16	2,23	183	25,56
T (Tetraciclină)	84	11,73	28	3,91
A (Ampicilină)	44	6,15	50	6,98
G (Gentamicină)	124	17,32	17	2,37
K (Kanamicină)	76/526*	14,44	25/526*	4,75
Nx (Acid nalidixic)	450	62,85	7	0,98
Co (Colimicin)	585	81,70	15	2,09
Nf (Nitrofurantoin)	518	72,35	13	1,82
Amx (Amoxicilină)	65	9,08	95	13,27
Cft (Cefotetan)	307	42,88	8	1,12
Cfx (Ceftriaxonă)	49/546*	8,97	64/546*	11,72
Ofl (Ofloxacin)	484	67,60	16	2,23
Cpz (Cefoperazonă)	199	27,79	34	4,75
Ipm (Imipenem)	84	11,73	0	0
Taz (Tazobactam)	19	2,65	0	0
Amk (Amikacin)	157/526*	29,85	31/526*	5,89
Caz (Ceftazidim)	239/526*	45,44	23/526*	4,37
Ctx (Cefotaxim)	199/291*	68,38	10/291*	3,44
C (Cloramfenicol)	65/270*	24,07	6/270*	2,22

* Unele dintre antibiotice nu au fost testate la toate cele 716 uroculturi; în aceste cazuri numărul de uroculturi în care E.coli a fost sensibil, respectiv rezistent, a fost indicat în tabel sub forma unei fracții, numitorul constituindu-l numărul de uroculturi în care antibioticul a fost testat.

În cazul bacilului piocianic cea mai mare sensibilitate a fost față de Colimicin (86,42%), urmat de Imipenem (33,33%), Ceftazidim (31,07%), Ofloxacin (28,40%) și Nitrofurantoin (20,99%), pentru celelalte antibiotice sensibilitatea nedepășind 20%. Rezistența maximă a fost față de Amikacin

(8,64%), urmată de Streptomicină şi Gentamicină (fiecare cu 8,02%), Ceftazidim (7,77%), iar în rest rezistenţa a fost sub 5%. Informaţii mai complete privind sensibilitatea şi rezistenţa bacilului piocianic faţă de antibioticele testate pot fi regăsite în tabelul 2.

Tabelul 2. Sensibilitatea şi rezistenţa bacilului piocianic la diferite antibiotice.

	Sensibilitate		Rezistenţă	
	Nr.	%	Nr.	%
S (Streptomicină)	1	0,62	13	8,02
T (Tetraciclină)	7	4,32	13	8,02
A (Ampicilină)	3	1,85	4	2,47
G (Gentamicină)	12	7,41	2	1,23
K (Kanamicină)	6	3,70	5	3,09
Nx (Acid nalidixic)	33	20,37	2	1,23
Co (Colimicin)	140	86,42	2	1,23
Nf (Nitrofurantoin)	34	20,99	4	2,47
Amx (Amoxicilină)	5	3,09	8	4,94
Ox (Oxacilină)	1	0,62	0	0
Cft (Cefotetan)	19	11,73	4	2,47
Ofl (Ofloxacin)	46	28,40	6	3,70
Ipm (Imipenem)	54	33,33	2	1,23
Ti (Ticarcilină)	2	1,23	2	1,23
Cpz (Cefoperazonă)	15	9,26	6	3,70
Taz (Tazobactam)	11	6,79	1	0,62
Amk (Amikacin)	33	20,37	14	8,64
Cfx (Ceftriaxonă)	3	1,85	5	3,09
Caz (Ceftazidim)	32/103*	31,07	8/103*	7,77
Ctx (Cefotaxim)	11/125*	8,80	4/125*	3,20

* Aceeaşi menţiune ca la tabelul 1. Numărul total de uroculturi pozitive pentru bacilul piocianic a fost de 162.

Klebsiella a prezentat o sensibilitate considerabilă faţă de Colimicin (82,35%), dar şi faţă de Acidul nalidixic (58,09%), Ofloxacin (52,21%) şi Nitrofurantoin (51,47%), sensibilitatea pentru celelalte antibiotice fiind mai mică de 40%. Cele mai mari procente de rezistenţă s-au înregistrat pentru Amoxicilină (11,76%), Streptomicină (10,29%), Tetraciclină (9,56%) şi Ceftriaxonă (8,82%). Aceste date pot fi urmărite în tabelul 3.

Tabelul 3. Sensibilitatea şi rezistenţa *Klebsiella* la diferite antibiotice.

	Sensibilitate		Rezistenţă	
	Nr.	%	Nr.	%
S (Streptomicină)	4	2,94	14	10,29
T (Tetraciclină)	12	8,82	13	9,56
A (Ampicilină)	3	2,21	4	2,94
G (Gentamicină)	17	12,50	7	5,15
K (Kanamicină)	13	9,56	4	2,94
Nx (Acid nalidixic)	79	58,09	0	0
Co (Colimicin)	112	82,35	1	0,74
Nf (Nitrofurantoin)	70	51,47	6	4,41
Amx (Amoxicilină)	5	3,68	16	11,76
Amk (Amikacin)	32/102*	31,37	6/102*	5,88
Cft (Cefotetan)	36	26,47	4	2,94
Ofl (Ofloxacin)	71	52,21	5	3,68
Cpz (Cefoperazonă)	20	14,71	4	2,94
Ipm (Imipenem)	14	10,29	0	0
Taz (Tazobactam)	5	3,68	0	0
C (Cloramfenicol)	8	5,88	2	1,47
Cfx (Ceftriaxonă)	7	5,15	12	8,82
Ctx (Cefotaxim)	32/102*	31,37	5/102*	4,90
Caz (Ceftazidim)	377/102*	36,27	5/102*	4,90

* Aceeaşi menţiune ca la tabelul 1. Numărul total de uroculturi pozitive pentru Klebsiella a fost de 136.

Sensibilitatea maximă a *Proteus vulgaris* este pentru Ofloxacin (65,57%), urmată în ordine de Acidul nalidixic (54,10%) şi Nitrofurantoin (40,98%), restul antibioticelor testate fiind sensibile în procente mai mici de 30. Rezistenţa cea mai mare a acestei bacterii a fost faţă de Streptomicină (18,03%) şi Amoxicilină (11,48%). Tabelul 4 oferă imaginea completă a spectrului de sensibilitate şi de rezistenţă la antibioticele testate.

Cel mai eficient antibiotic faţă de *Proteus mirabilis* este Ofloxacinul (sensibilitate 47,61%), existând ca alternative Acidul nalidixic (42,85%) şi Colimicinul (23,80%). Pentru Colimicin există însă şi o rezistenţă semnificativă (9,5%), care este prezentă şi în cazul Streptomicinei, Nitrofurantoinului şi al unor cefalosporine (tabelul 5).

Tabelul 4. Sensibilitatea şi rezistenţa *Proteus vulgaris* la diferite antibiotice.

	Sensibilitate		Rezistenţă	
	Nr.	%	Nr.	%
S (Streptomicină)	0	0	11	18,03
T (Tetraciclină)	2	3,28	1	1,64
A (Ampicilină)	6	9,84	2	3,28
G (Gentamicină)	12	19,67	0	0
Nx (Acid nalidixic)	33	54,10	2	3,28
Co (Colimicin)	17	27,87	2	3,28
Nf (Nitrofurantoin)	25	40,98	7	11,48
Amx (Amoxicilină)	7	11,48	4	6,56
Cft (Cefotetan)	11	18,03	5	8,20
Cpz (Cefoperazonă)	9	14,75	1	1,64
Ofl (Ofloxacin)	40	65,57	0	0
Po (Polimixină)	1	1,64	0	0
Ipm (Imipenem)	11	18,03	0	0
Amk (Amikacin)	16	26,23	3	4,92
Ctx (Cefotaxim)	18	29,51	2	3,28
Caz (Ceftazidim)	13	21,31	4	6,56
Cfx (Ceftriaxonă)	0	0	4	6,56
C (Cloramfenicol)	2	3,28	0	0
Net (Netilmicină)	1	1,64	0	0

Numărul total de uroculturi pozitive pentru Proteus vulgaris a fost de 61.

Tabelul 5. Sensibilitatea şi rezistenţa *Proteus mirabilis* la diferite antibiotice.

	Sensibilitate		Rezistenţă	
	Nr.	%	Nr.	%
S (Streptomicină)	0	0	2	9,5
T (Tetraciclină)	0	0	0	0
A (Ampicilină)	0	0	0	0
G (Gentamicină)	1	4,76	0	0
Nx (Acid nalidixic)	9	42,85	1	4,76
Co (Colimicin)	5	23,80	2	9,5
Nf (Nitrofurantoin)	4	19,04	2	9,5
Amx (Amoxicilină)	0	0	0	0
Ox (Oxacilină)	0	0	0	0
Cft (Cefotetan)	5	23,80	2	9,5
Cpz (Cefoperazonă)	2	9,5	1	4,76
Ofl (Ofloxacin)	10	47,61	0	0
Ipm (Imipenem)	4	19,04	0	0
Taz (Tazobactam)	1	4,76	0	0
Amk (Amikacin)	3	14,20	1	4,76
Caz (Ceftazidim)	2	9,5	1	4,76
C (Cloramfenicol)	0	0	1	4,76
Ctx (Cefotaxim)	3	14,2	2	9,5

Numărul total de uroculturi pozitive pentru Proteus mirabilis a fost de 21.

Discuții.

În urma efectuării studiului nostru şi a comparării cu datele din literatura de specialitate (Ciocâlteu, 2000) am constatat că bacilul piocianic ocupă locul al doilea ca frecvență în lotul nostru, față de alte studii în care bacterii mai puțin virulente se află pe această poziție (ex. *Klebsiella*), fapt explicat pe de o parte prin concentrarea cazurilor de infecții severe în spital şi pe de altă parte prin transmiterea intraspitalicească a acestor microorganisme. Menționăm că în perioada efectuării uroculturilor în aceeaşi clădire funcționa un serviciu de urologie, cunoscută fiind selecția în aceste secții a unor tulpini virulente şi rezistente (Fowler, 1986).

Alt aspect care merită subliniat este acela că spectrul rezistențelor şi sensibilităților evidențiate de acest studiu nu poate fi extrapolat în populația generală, fiind vorba de infecții din mediul spitalicesc.

Concluzii.

Rezistența bacteriilor gram-negative în mediu spitalicesc este în creştere pentru o gamă tot mai largă de antibiotice.

Antibioticele la care pare să existe cea mai mare sensibilitate sunt Colimicinul, Nitrofurantoinul, unele cefalosporine de generația a III-a, Ofloxacinul şi Acidul nalidixic. Printre agenții terapeutici la care bacteriile sunt cel mai rezistente se numără Streptomicina, Amoxicilina, Ceftriaxona şi Amikacina.

Studiul nostru demonstrează din nou principiul sănătos de practică medicală conform căruia este preferabil a trata întotdeauna infecțiile urinare după antibiograma realizată din urocultură, dat fiind caracterul dinamic al sensibilității şi rezistenței bacteriene, care face ca rezultatele terapiilor "empirice" să fie nesigure (Kunin, 1987; Ciocâlteu, 2000; Matinca, 2002).

Bibliografie

1. CIOCÂLTEU A. - Nefrologie clinică pentru examenul de Rezidențiat - Editura Infomedica, Bucureşti, 2000, pag. 7-63
2. FOWLER J.E. JR. - Urinary Tract Infections in Women - Urologic Clinics of North America, nov. 1986, pag. 673-683
3. KUNIN C.M. - Detection, Prevention and Management of Urinary Tract Infections - 4th Edition, Philadelphia, Lea and Febiger, 1987, pag. 7-20
4. MATINCA D. - Antibiotice - Editura Medicală Universitară "Iuliu Haţieganu", Cluj-Napoca, 2002, pag. 30-55
5. STROESCU V. - Bazele farmacologice ale practicii medicale - Editura Medicală, Bucureşti, 2001, ediția a 7-a, pag. 1194-1356

REZISTENȚA ANTIBACTERIANĂ A MICROORGANISMELOR IZOLATE DIN EXUDATELE FARINGIENE ALE UNOR BOLNAVI INTERNAȚI ÎNTR-UN SERVICIU DE MEDICINĂ INTERNĂ

C. Marginean*, L. Bancioiu**, V.Cristea*
* *Clinica Medicala III*
** *Clinica Boli Infectioase, Cluj-Napoca*

Abstract

The aim of the study: The purpose of the present study is to evaluate the behaviour towards different antibiotics of the isolated bacterium from the pharyngeal cultures.

Material and methodes: It have been examinated 723 pharyngeal cultures between 1997-2002 from the pacients in the 3rd Internal Clinic in Cluj-Napoca.

The results: The most frequent isolated bacterium was the Beta Streptococcus-hemolyticus 48,82% (353 cases), followed by the Staphylococcus aureus hemolyticus 38,31% (277 cases).

In a much less proportion (almost 11 %) enterobacteriaceaes have been isolated: Klebsiella 6,22% (45), E. Coli 4,1% (30), Proteus 0,41% (3) and the nonfermenters gram negative bacillus: Pseudomonas aeruginosa 2, 07% (15 cases).

The antibiograma, made in the case of the *Staphylococcus aureus hemolyticus*, has emphasised its senssibility at penami in group antibiotics 78,54%, penami and beta lactamase inhibitors 86,76%, cephalosporins 80,01%, aminoglycoside 84,74%, quinolones 85,72%, tetracyclines 67,24%, sulfonamides 100%, chloramphenicol 85,49%.

The isolated enterobacteriaceaes have been sensitive at quinolones 79,53%, chloramphenicol 69,54%, cephalosporins 58,46%, aminoglycosides 58,01%, tetracyclines 54,76%, penami and beta lactamase inhibitors 48,07% and penami 36,67%.

Regarding the Pseudomonas aeruginosa, it was sensitive at quinolones 83,33%, tetracyclines 50% and in a much less proportion at cephalosporins 40%, aminoglycosides 34,78% and penami 33,33%.

Besides the pure bacterium culture, in the pharyngeal cultures, different microbien associations have been isolated, as : *Streptococcus* + *Staphylococcus* (24 cases), *B. Coli* + *Klebsiella* (22 cases). In a variable proportion is has been emphasised other associations: *B. Coli*+ *Staphylococcus* (9 cases), B. Coli + *Pseudomonas aeruginosa* (6

cases), *Klebsiella* + *Staphylococcus* (4 cases), *B. Coli* + *Streptococcus* (3 cases), *Staphylococcus* + *Pseudomonas aeruginosa* (2 cases), *Klebsiella* +*Pseudomonas aeruginosa* (2 cases), *B. Coli* + *Proteus* (2 cases), *Klebsiella* + *Streptococcus* (2 cases), *Proteus* + *Pseudomonas aeruginosa* (2 cases).

În tratamentul unei infecţii alegerea unui antibiotic adecvat trebuie să ţină cont în primul rând de tipul de bacterie care a cauzat infecţia şi de sensibilitatea acestuia la antibiotic, fără a fi neglijată şi localizarea infecţiei, şi deci posibilitatea antibioticului de a pătrunde în ţesutul respectiv pentru a realiza o concentraţie eficientă (Matinca 2002).

Antibioterapia excesivă, inadecvată, este principala cauză a apariţiei rezistenţei. Presiunea de selecţie exercitată de antibiotice a favorizat apariţia şi răspândirea microorganismelor rezistente sau multirezistente atât comunitar cât şi intraspitalicesc.

Scop: Lucrarea de faţă îşi propune să evalueze comportamentul agenţiilor patogeni izolaţi din exudatele faringiene, faţă de diferite antibiotice, precum şi determinarea sensibilităţii acestora.

Material şi metodă: Au fost prelucrate 723 de exudate faringiene în perioada 1997-2002 de la pacienţi internaţi în Clinica Medicală III Cluj-Napoca. S-au luat în studiu şi exudatele faringiene din care s-au izolat mai multe microorganisme. Pentru realizarea acestui studiu retrospectiv s-au folosit şi datele existente în registrul laboratorului clinicii. Pentru fiecare agent patogen izolat din exudatul faringian s-a testat sensibilitatea acestuia la o baterie de antibiotice.

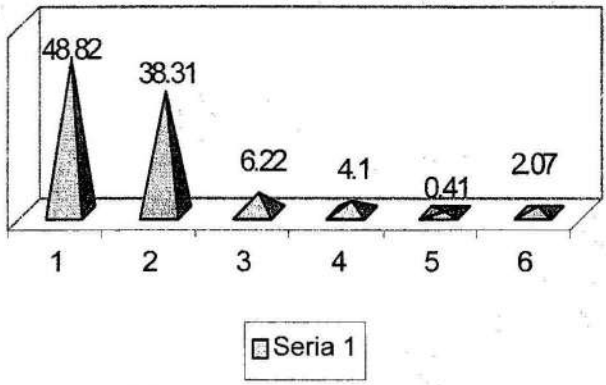
Rezultate: Bacteria izolată cel mai frecvent a fost Streptococul beta - hemolitic 48.82% (353 cazuri), urmat de *Staphilococul aureu hemolitic* 38.31% (277 cazuri).

Într-o proporţie mult mai mică (≅11%) s-au izolat enterobacterii: *Klebsiella* 6.22% (45), *E Coli* 4.1% (30), *Proteus* 0.41% (3) şi grupul de bacili gram negativi nefermentativi: *Pseudomonas aeriginosa* 2.07% (15 cazuri).

Antibiograma efectuată în cazul *Staphilococului aureu hemolitic* a evidenţiat sensibilitatea acestuia la antibioticele din grupa penami 78.54%, penami şi inhibitori de beta-lactamaze 86.76%, cefalosporine 80.01%, aminoglicozide 84.74%, chinolone 85.72%, tetracicline 67.24%, sulfamide 100%, cloramfenicol 85.49%.

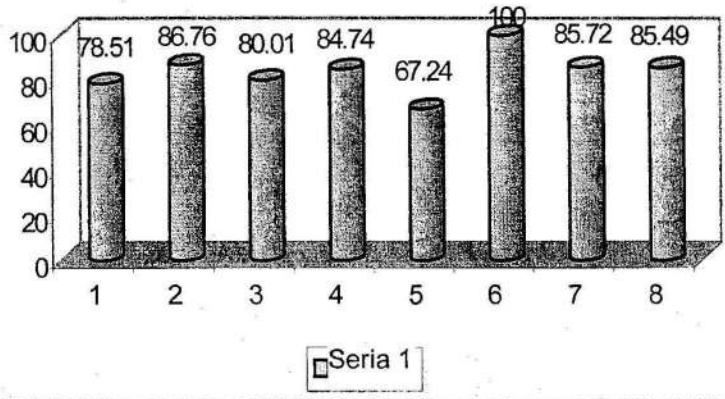
Enterobacteriile izolate au fost sensibile la chinolone 79.53%, cloramfenicol 69.54%, cefalosporine 58.46%, aminoglicozide 58.01%, tetracicline 54.76%, penami şi inhibitori de beta-lactamaze 48.07% şi penami 36.67%.

În ceea ce priveşte bacilul *Pseudomonas aeruginosa*, acesta a fost sensibil la chinolone 83.33%, tetracicline 50% şi în proporţie mai mică la cefalosporine 40%, aminoglicozide 34.78%, şi penami 33.33%.



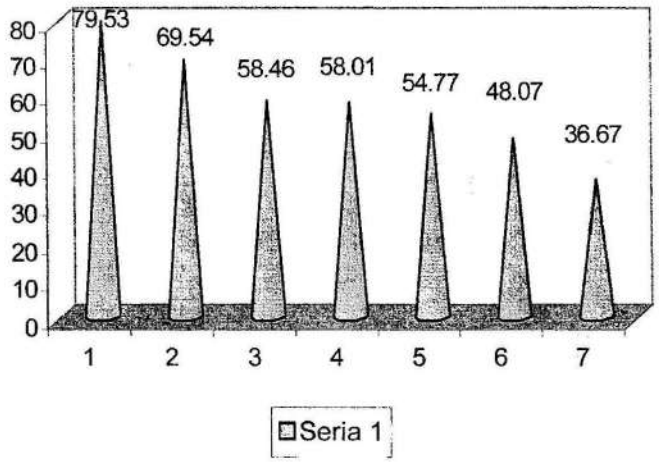
1.Steptococ - hemolitic
2.Staphilococ aureu hemolitic
3.Klebsiella
4.E.Coli
5.Proteus
6.Bacili gram – nefermentativi

Fig. nr. 1. Prevalența microorganismelor izolate din exudatele faringiene



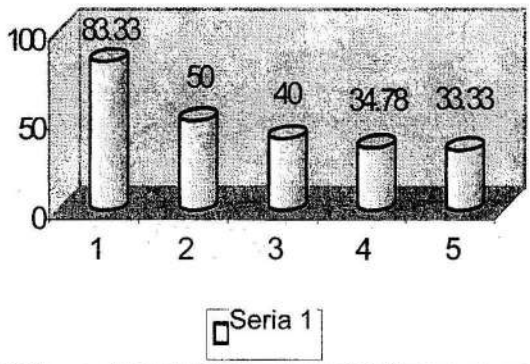
1.Penami
2.Penami si inhibitori de beta – lactamaze
3.Cefalosporine
4.Aminoglicozide
5.Tetracicline
6.Sulfamide
7.Chinolone
8.Cloramfenicol

Fig. nr. 2. Sensilibitatea *stafilococului aureu hemolitic* la antibiotice



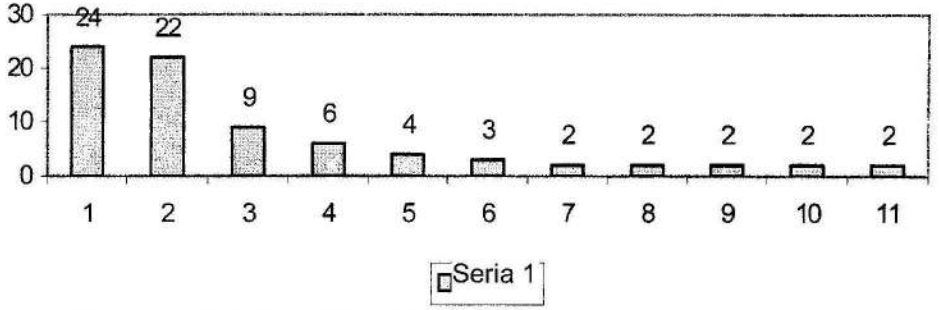
1.Chinolone
2.Cloramfenicol
3.Cefalosporine
4.Aminoglicozide
5.Tetracicline
6.Penami + inhibitori de beta – lactamaza
7.Penami

Fig. nr. 3. Sensibilitatea enterobacteriilor la antibiotice



1.Chinolone
2.Tetracicline
3.Cefalosporine
4.Aminoglicozide
5.Penami

Fig. nr. 4. Sensibilitatea la antibiotice a bacililor gram negativi nefermentativi (*Pseudomonas aeruginosa*)



1.Streptococ beta-hemolitic + Staphilococ aureus
2.Bacilul Coli + Klebsiella
3.Bacilul Coli + Staphilococ
4.Bacilul Coli + Piocianic
5.Klebsiella + Staphilococ aureus
6.Bacilul Coli + Steptococ beta-hemolitic
7.Staphilococ aureus + Piocianic
8.Klebsiella + Piocianic
9.Bacilul Coli + Proteus
10.Klebsiella + Streptococ beta-hemolitic
11.Proteus + Piocianic

Fig. nr. 5. Asociaţii de microorganisme izolate din exudatele faringiene

Pe lângă culturile bacteriene pure, în exudatele faringiene s-au izolat şi diverse asociaţii microbiene ca de exemplu: *Steptococ + Staphilococ* (24 cazuri), B. Coli + Klebsiella (9 cazuri). Într-o proporţie variabilă s-au evidenţiat şi alte asocieri: *B. Coli + Staphilococ* (9 cazuri), *B. Coli + Pseudomonas aeruginosa* (6 cazuri), *Klebsiella + Staphilococ* (4 cazuri), *B. Coli + Streptococ* (3 cazuri), *Staphilococ + Pseudomonas aeruginosa* (2 cazuri), *Klebsiella + Pseudomonas aeruginosa* (2 cazuri), *B. Coli + Proteus* (2 cazuri), *Klebsiella + Streptococ* (2 cazuri), *Proteus + Pseudomonas aeruginosa* (2 cazuri).

În urma acestui studiu s-a constatat că *Streptococul beta hemolitic* este agentul etiologic cel mai frecvent întâlnit în exudatele faringiene, ceea ce corespunde cu datele din literatură (Voiculescu 1989). Deşi acesta este cel mai întâlnit agent etiologic, totuşi s-au izolat numeroase alte microorganisme şi chiar asociaţii bacteriene.

Concluzii: Studiul nostru sugerează recoltarea exudatelor faringiene, înainte de începerea tratamentului antibiotic empiric, având în vedere numărul mare de agenţi infecţioşi izolaţi şi eradicarea acestora conform antibiogramei (Stroescu 2001).

Bibliografie

1. MATINCA D. – Antibiotice – Editura Medicala Universitara " Iuliu Hatieganu ", Cluj-Napoca, 2002, pag 4-25
2. STROESCU V. – Bazele farmacologice ale practicii medicale – Editura Medicala, Bucureşti, 2001, Editia a 7 a, pag. 1190-1228
3. VOICULESCU M.G. – Boli infectioase – Editura Medicala , Bucuresti 1989, pag. 311-324
4. CARSTINA D. – Antibioticele – Utilizarea lor in tratamentul infectiei – Editura Medicala Universitară "Iuliu Hatieganu " Cluj-Napoca 2001, pag.45-56.

CONTROLUL UTILIZĂRII TERAPEUTICE A ANTIBIOTICELOR

Mariana Voitcu, Elena Mihaela Cărăuşu
Institutul de Medicină şi Farmacie „Gr.T.Popa" Iaşi

Introducere

Rezistenţa la antibiotice reprezintă o problemă majoră de sănătate publică, trezind îngrijorarea cu atât mai mult, cu cât este în expansiune. Deşi la origini este o problemă locală, rezistenţa se răspândeşte în afara graniţelor geografice şi sociale, în special prin turism, comerţ, emigrare. Cu toate eforturile la nivel naţional, sunt necesare strategii globale pentru controlul eficient al infecţiilor şi al rezistenţei microbiene (4).

Un document al OMS din anul 2000 cu tema „Învingerea rezistenţei antimicrobiene" arată calea cea mai bună de rezolvare a acestei probleme terapeutice majore: "Strategia cea mai eficientă împotriva rezistenţei antimicrobiene constă în a face treaba bine de prima dată – de a distruge ireversibil microbii – învingând astfel rezistenţa înainte de a începe". Tot aici se arată că: "Utilizarea corectă a antibioticelor înseamnă folosirea acestora în raportul cost/eficienţă, astfel încât să se obţină efectul clinic maxim, simultan cu minimalizarea toxicităţii şi a rezistenţei antimicrobiene" (1).

Specialiştii din domeniu apreciază că antibioticele, ca „medicamente minune", au fost victime ale propriului lor succes. Aceasta înseamnă că, datorită eficienţei lor, au fost folosite fără măsură, ceea ce a condus la selectarea de tulpini rezistente. De aceea, pentru a le mai putea utiliza, trebuie să fie „drămuite" cele pe care le avem, deoarece pentru a descoperi alte noi antibiotice sunt necesari ani buni de cercetări şi experimentări.

Un prim pas în combaterea rezistenţei îl constituie conştientizarea problemei, sensibilizarea tuturor celor implicaţi, o dată cu o mai bună informare privind corecta utilizare a antibioticelor.

Monitorizarea şi identificarea transmiterii şi răspândirii agenţilor patogeni, în special a celor care determină infecţii severe, transmisibile (cum ar fi tuberculoza), a căror prevalenţă este în creştere, au de asemenea un rol important (2).

Medicii trebuie să fie permanent informaţi asupra prevalenţei rezistenţei, asupra mecanismelor acesteia, pentru a putea lua decizii corecte privind prescrierea celor mai potrivite antibiotice pentru fiecare caz.

Pot fi semnificative şi unele date de marketing privind utilizarea,

distribuţia şi vânzările de antibiotice, în special eliberări de antibiotice fără prescripţie (4).

Este important să existe un control al utilizării antibioticelor la diferite niveluri, cunoscut fiind faptul că în numeroase ţări ale lumii antibioticele sunt disponibile fără prescripţie medicală, încurajându-se astfel automedicaţia şi utilizarea improprie a acestora, în special dacă lipsesc informaţiile privind terapia cu antibiotice.

Una dintre cele mai mari probleme a locuitorilor zonelor sărace ale globului o constituie subutilizarea antibioticelor: deoarece nu îşi pot permite tratamentul antiinfecţios complet, aceşti oameni împart medicamentele cu membrii familiei, ori cumpără produse subdozate, mai ieftine, sau contrafăcute. În aceste zone, din cauza malnutriţiei, a condiţiilor precare de igienă şi a asistenţei medicale deficitare, nu se poate controla răspândirea infecţiilor cum ar fi: diareea simplă, infecţiile tractului respirator, tuberculoza, meningita, difteria ş.a. (2)

Programele internaţionale privind controlul rezistenţei la antibiotice trebuie să fie însoţite de acţiuni educative la nivel naţional, precum şi de măsuri de interzicere a utilizării antibioticelor în agricultură (ca stimulatori de creştere) şi industria alimentară.

Strategiile globale de sănătate publică trebuie să includă îmbunătăţirea monitorizării, implementarea unui sistem de control al infecţiilor, încurajarea cercetărilor privind mecanismele şi factorii care favorizează rezistenţa la noile antibiotice, programe educaţionale complexe adresate medicilor, farmaciştilor, publicului, precum şi promovarea utilizării adecvate a antibioticelor.

Implicarea farmacistului în aceste probleme este subliniată de faptul că Legea 81/1997 prevede că: „Profesiunea de farmacist are ca scop asigurarea sănătăţii publice prin cercetarea, producerea, difuzarea şi eliberarea medicamentelor". Au fost identificate până în prezent următoarele roluri ale farmaciei în sănătatea publică: controlul bolilor epidemice, controlul maladiilor netransmisibile, controlul toxicomaniilor şi al farmacodependenţei, prevenirea îmbolnăvirilor, protecţia sănătăţii mamei şi a copilului, planificarea familială şi sănătatea reproducerii, prevenţia stomatologică, educarea publicului privind nutriţia echilibrată, grija pentru mediul înconjurător, prevenirea şi combaterea alcoolismului şi a fumatului, controlul abuzului de medicamente şi al automedicaţiei (3).

Dată fiind existenţa automedicaţiei, care în literatura de specialitate este apreciată ca având o frecvenţă de 30 %, ne propunem în cadrul lucrării de faţă, un studiu asupra cauzelor acesteia, precum şi stabilirea cadrului legal actual reprezentat de Nomenclatorul de medicamente pentru anul 2002.

Material şi metodă

Pentru determinarea tendinţei la automedicaţie a publicului au fost urmărite, în perioada octombrie–noiembrie 2002, 40 de farmacii din municipiul Iaşi, notându-se solicitarea antibioticelor fără reţetă, precum şi eliberarea acestora, pe bază de prescripţie medicală.

Rezultatele au fost centralizate şi prelucrate statistic, stabilindu-se frecvenţa eliberării la cerere şi pe bază de prescripţie medicală pentru următoarele

antibiotice: amoxicilină, ampicilină, cefalexină, doxiciclină, eritromicină, oxacilină, benzilpenicilină.

Pentru evidenţierea cauzelor automedicaţiei a fost elaborat un chestionar specific cu autoadministrare, format din 6 itemi, destinat la trei categorii semnificative: medici, farmacişti, pacienţi, culegându-se câte 70 seturi de răspunsuri pentru fiecare grupă.

Rezultate şi discuţii

Condiţiile specifice ale mileniului al treilea au favorizat dezvoltarea automedicaţiei şi la alte grupe de medicamente, în afara celor din grupa OTC (pentru care Nomenclatorul de medicamente permite a fi eliberate fără prescripţie medicală), cum ar fi antibioticele.

Rezultatele obţinute în cadrul studiului nostru asupra unor farmacii din Iaşi a evidenţiat existenţa automedicaţiei pentru toate medicamentele din grupa antibioticelor cercetate. Reprezentându-se comparativ cele două situaţii, eliberare la cerere şi pe bază de prescripţie medicală, se constată că pentru unele antibiotice (amoxicilină, ampicilină, doxiciclină, eritromicină şi oxacilină) este mai ridicată frecvenţa corespunzătoare eliberării la cerere, ceea ce poate fi o dovadă de existenţă a automedicaţiei.

Alte antibiotice, de exemplu cefalexina şi benzilpenicilina, sunt mai frecvent eliberate pe bază de prescripţie medicală, în comparaţie cu cazurile de automedicaţie.

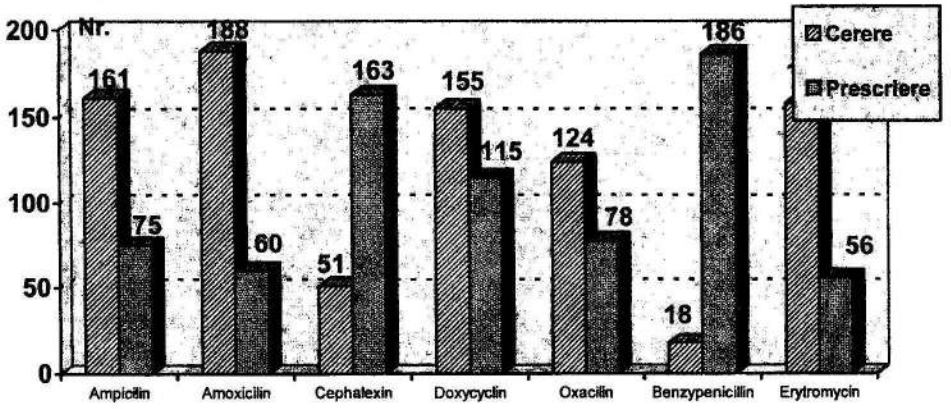


Fig.1. Comparaţie între eliberarea la cerere şi pe bază de prescripţie medicală a unor antibiotice – (în perioada octombrie-noiembrie 2002, în municipiul Iaşi).

Din datele prezentate rezultă că există o tendinţă a publicului de a solicita antibiotice fără prescripţie medicală, deci cazurile de automedicaţie cu aceste produse sunt reale şi frecvente.

În cadrul studiului a fost remarcată preferinţa consumatorului de medicamente pentru formele orale de dozare; din fig. 2, reiese că 59% din antibioticele eliberate la cerere au fost de acest tip.

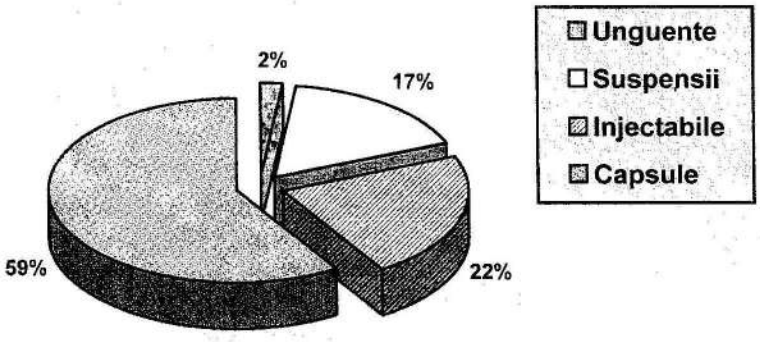


Fig. 2. Preferința pentru formele de dozare pentru antibioticele eliberate la cerere.

Acest aspect nu este deloc neglijat de către producătorii de antibiotice, care şi-au revizuit oferta de produse, orientându-se către aceste forme, bine primite de pacient. Pe de altă parte, constatarea preferinței pacienților pentru anumite forme de dozare este importantă pentru creşterea complianței acestora la tratamentul prescris. În tabelul I sunt sintetizate avantajele şi dezavantajele administrării pe cale orală şi parenterală a medicamentelor.

Tabelul I. Comparație între formele de dozare orale şi cele parenterale

	Calea orală de administrare	Calea parenterală de administrare
Avantaje	Folosesc calea naturală de administrare Sunt uşor acceptate de către bolnav Cale mai comodă pentru pacient şi personalul sanitar sau de îngrijire Există posibilitatea de autoadministrare Unele medicamente au o absorbție mai bună pe această cale Nu necesită personal calificat Nu este necesară sterilizarea produselor	Biodisponibilitatea este mai mare decât pe calea orala, pentru multe medicamente Absorbția este mai rapidă, acțiunea se instalează mai rapid decât în calea orală Nu sunt inactivate medicamentele de către sucurile digestive şi de conținutul intestinal Pot fi administrate substanțe care nu sunt absorbite în tubul digestiv (molecule mari) Se pot administra bolnavilor necooperanți
Dezavantaje	Nu poate fi supravegheată administrarea formelor orale în tratamentul ambulator Unele produse dau reacții adverse în sfera gastro-intestinală Nu este utilă pentru bolnavii necooperanți Necesită măsuri de atenție la copii	Nu sunt agreate de către bolnav (neplăcute, dureroase); dau numeroase reacții adverse Necesită personal calificat, tehnică specială de administrare, asepsie Tehnologia de preparare mai pretențioasă, produs final steril, pur, ambalaj special (unidoze)

Una din cauzele identificate ca favorizând automedicaţia este numărul mare de produse medicamentoase disponibile publicului; astfel în ţara noastră, în ultimul deceniu, numărul de produse farmaceutice a crescut lent, dar constant, aşa cum rezultă din datele prezentate în tab. II.

Tabelul II. Dinamica numărului de produse farmaceutice în perioada 1994-2002.

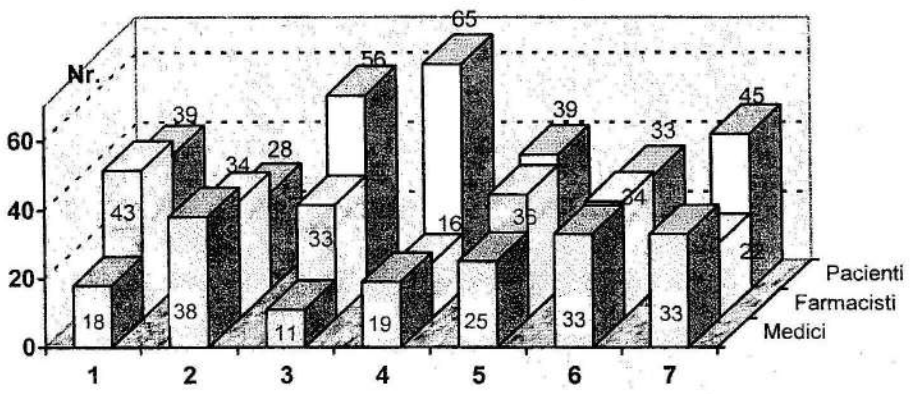
	Nr. substanţe active	Nr. total produse înregistrate
Nomenclator 1994	583	1090
Nomenclator 1998	871	5420
Nomenclator 2002	980	5760

Cazurile în care, pentru aceeaşi substanţă activă sunt prezente pe piaţă mai multe produse (situaţie numită în termeni de specialitate „comarketing") sunt frecvente (tab. III).

Tabelul III. Situaţii de comarketing pentru unele antibiotice.

DCI	**Nomenclator 1998 număr de produse înregistrate**	**Nomenclator 2002 număr de produse înregistrate**
Ampicillinum	42	63
Cefalexinum	27	37
Cefuroxinum	16	52
Doxycyclinum	16	16
Erythromycinum	32	23
Gentamycinum	28	18
Oxacillinum	14	25
Streptomycinum	1	4
Tetracyclinum	8	5

În ceea ce priveşte chestionarul administrat, pentru prima întrebare am primit răspunsuri al căror conţinut este reprezentat în fig. 3: accesibilitatea redusă la serviciile medicale este apreciată de 39% dintre pacienţi ca fiind o problemă principală care ar determina automedicaţia, de 43% dintre farmacişti şi de numai 18% dintre medici.



Legendă:
1 – Acces dificil la serviciile medicale;
2 – Accesibilitate mare la medicament;
3 – Contribuţiile mari ale asigurărilor de sănătate;
4 – Costuri ridicate pentru asistenţa medicală;
5 – Publicitatea pentru medicamente;
6 – Legislaţie permisivă;
7 – Preţurile accesibile ale unor medicamente.

Fig. 3. Cauzele automedicaţiei

Prima dintre cauzele automedicaţiei luată în discuţie, accesibilitatea mare la medicament, este apreciată de medici cu 38%, însă de către pacienţi cu numai 28%.

O altă cauză luată în considerare este constituită de taxele mari ale asigurărilor de sănătate, evidenţiată de către 56% dintre pacienţi, de 33% dintre farmacişti şi de 11% dintre medicii chestionaţi. Un răspuns similar, costurile mari pentru asistenţa de sănătate, este subliniat de 65% dintre pacienţi, în timp ce celelalte segmente studiate dau valori relativ scăzute:19% pentru medici şi 16 % pentru farmacişti.

Fiind chestionaţi dacă „Publicitatea reprezintă o cauză pentru automedicaţie?", pacienţii au răspuns afirmativ în proporţie de 39%, iar farmaciştii 36%, în timp ce 25% dintre medici apreciază acest aspect.

În ceea ce priveşte legislaţia permisivă, ea este apreciată în egală măsură ca fiind un factor al automedicaţiei, de către cele trei grupe cercetate.

Preţurile mici ale medicamentelor sunt apreciate de către 45% dintre pacienţi ca fiind favorizante pentru automedicaţie, în timp ce 33% din medicii şi 22% dintre farmaciştii corelează preţul scăzut al medicamentelor cu creşterea frecvenţei automedicaţiei.

Următoarea figură prezintă situaţia răspunsurilor la întrebarea „Farmacistul poate să controleze tendinţa de automedicaţie a publicului?". Din datele prezentate

rezultă că pacientul apreciază efortul permanent al farmacistului de a-l ajuta în rezolvarea problemelor de sănătate.

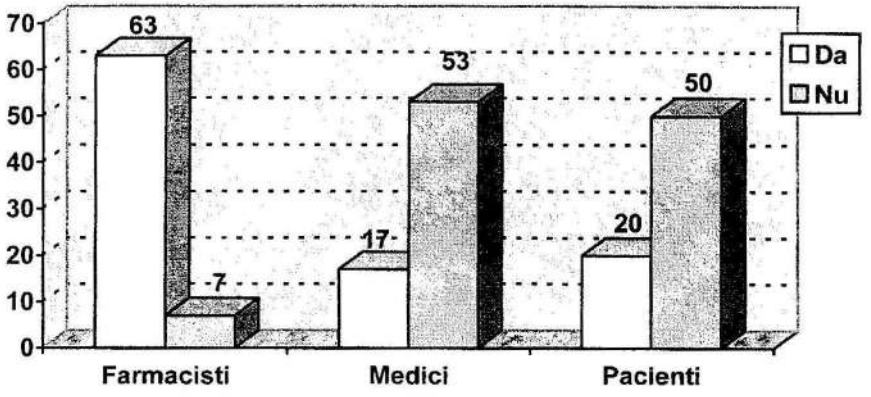


Fig. 4. Rolul farmacistul în controlul automedicației.

Din această figură se constată că toate cele trei grupuri consideră că farmacistul poate să controleze tendința de automedicație a publicului, procentajul cel mai ridicat fiind înregistrat la farmaciști și cel mai scăzut la medici.

Condițiile actuale ale Nomenclatorului din 2002 sunt restrictive în ceea ce privește eliberarea medicamentelor, realizând suportul legislativ pentru controlul automedicației, așa cum rezultă din datele prezentate în tabelul III.

Tabelul III. Condițiile de eliberare a medicamentelor - *conform Nomenclatorului 2002.*

Produse farmaceutice	*Numărul*	(%)
Produse speciale „S" (spitale și dispensare)	974	16,91
Produse eliberate pe rețetă valabilă 6 luni „P-6L"	1452	25,21
Produse eliberate pe rețetă care se reține în farmacie „P-RF"	2252	39,10
OTC	888	15,41
TM	3	0,10
Substanțe farmaceutice (borax) „S"	1	
Produse vegetale „VEG"	144	2,50
Produse uz stomatologic „STO"	31	0,53
Produse eliberate pe rețetă cu timbru sec „P-TS"	14	0,24
Total	5759	99,90

Din totalul produselor înscrise în Nomenclator 71,53% se eliberează pe bază de prescripție medicală și numai 28,47% la cerere - fig. 5.

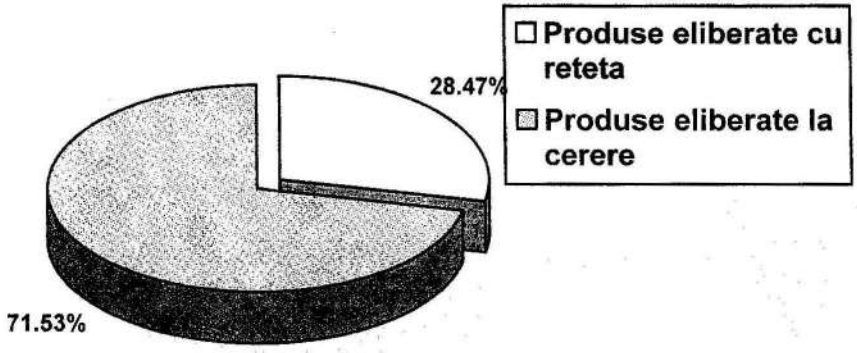


Fig. 5. Eliberarea medicamentelor din farmacie conform Nomenclatorului 2002.

Concluzii

Farmacistul are competența și prestigiul profesional de a controla abuzul de antibiotice și tendința la automedicație cu aceste produse, fiind un factor important în prevenirea rezistenței microorganismelor la tratamentele prescrise.

Nomenclatorul de medicamente pentru anul 2002 cuprinde noile exigențe privind regimul produselor farmaceutice: 71,53% sunt eliberate pe bază de prescripție medicală. Acesta este un temei solid pentru controlul automedicației și al abuzului de antibiotice.

Bibliografie

1. BACHINSKY J.A., SEGAL H.J. – *Pharmacy Management in Canada* (Second Edition), The Canadian Foundation for Pharmacy, Totonto, Ontario; 1998, 16-20.
2. MARDEROSIAN A.H.D. – *The Pharmacist and the Public Health*, Remington's Pharm. Sciences, Mack Publ. Co, 1995; 1755-1771.
3. VOITCU MARIANA – *Elemente de management și marketing farmaceutic*, Editura Cermi, Iași, 1998; 68–110.
4. VOITCU MARIANA, CĂRĂUSU ELENA MIHAELA - *Management sanitar și farmaceutic*, Editura "Gr. T. Popa" Iași, 2003, 196-210.

REZISTENȚA LA ANTIBIOTICE ÎN SEPSIS

Carmen Bunu[1,2], Carmen Cristescu[1], K Bota[2], E Nicoară[1,2]

[1] *Universitatea de Medicina şi Farmacie "Victor Babeş" Timişoara*

[2] *Spitalul Clinic Nr. 4 "Victor Babeş"*

Abstract

During the last 25 years, the resistance to antibiotics has dramatically increased, being a cause of therapeutic failure in severe infections. Cases of septicemia from the Infectious Disease Clinics from Timisoara, 1990 and 2000, have been included in the study analyzing comparatively the etiology and the chimiosensivity of the isolated germs. In 1990, the index of positively blood cultures was 8% and in 2000 15%. Explicitly there have been isolated 22 types of germs from 280 blood cultures in 1990 and types of 54 germs from 360 blood cultures in 2000. The high incident of S. Aureus occurred in 1990 and in 2000 the etiology of Enterobacteriacaee was dominant. Referring to the chimiosensivity of the most important etiologies, we noticed the rise of resistant germs and also the development of new sensitivities to flourochinolones and β-lactamines, recently introduced in therapeutic practice. In conclusion, under the pressure of antibiotic therapy, the chimosensivity of germs implicated in the infectious processes is continuously changing.

Sepsisul face parte din sindroamele cu risc de mortalitate major la pacienţii spitalizaţi, cu o rată mortalitate care variază între 30% şi 70%, dependentă atât de caracteristicile agentului patogen cât şi de factori care ţin de organismul gazdă, inclusiv de vârstă şi afecţiunea de bază. Majoritatea cazurilor de septicemie sunt produse de un număr limitat de germeni patogeni, incluzând specii de *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas aeruginosa* şi *Candida* (Kempf şi colab., 2000, Trebesius şi colab., 1998) [1,2]. Identificarea rapidă a agentului patogen cauzal este crucială pentru selectarea terapiei antimicrobiene adecvate în septicemie, cu eficienţă maximă şi faţă de care să existe o bună susceptibilitate, cu scopul de-a ameliora prognosticul pacientului şi pentru a evita instalarea chimiorezistenţei bacteriene, în condiţiile scăderii cheltuielilor inutile de tratament (White şi colab., 1997, Souvenir şi colab., 1998) [3,4].

Antibioticele reprezintă una dintre cele mai importante achiziţii ale

medicinii secolului XX. Utilizarea lor a schimbat radical prognosticul şi poziţionarea bolilor infecţioase în contextul patologiei generale.

Fenomenul rezistenţei bacteriene la antibiotice s-a evidenţiat încă din primii ani de folosire, dar acest fenomen nu a devenit o problemă îngrijorătoare decât în ultimii 25 de ani. În prezent, indicaţiile clasice ale unor antibiotice au trebuit modificate, datorită apariţiei a numeroase tulpini rezistente. Rezistenţa microbiană la unul sau mai multe antibiotice se datorează diferitelor mecanisme constituţionale sau dobândite.

Hemocultura este gold-standardul pentru determinarea bacteriemiei [1-4]. În ultimii 20 de ani s-au înregistrat progrese semnificative în ceea ce priveşte mediile de cultură precum şi în automatizarea tehnicii de hemocultură. Aceste progrese au urmărit scurtarea timpului necesar pentru detecţia agentului patogen şi a sensibilităţii testelor pentru un anumit patogen şi s-au materializat prin apariţia sistemelor de hemocultură automată monitorizată continuu.

Cunoscând dinamica rezistenţei microbiene, ne-am propus să evaluăm comparativ chimiosensibilitatea agenţilor patogeni izolaţi în hemoculturi prelucrate în doua etape, la distanţă de 10 ani. Menţionăm că între cele două loturi comparate intervin şi factorii dependenţi de metoda de izolare folosită.

Material si metodă

S-au luat în studiu două loturi, reprezentând hemoculturile prelucrate în cadrul Laboratorului de microbiologie al Spitalului Clinic Victor Babeş din Timişoara, provenite de la Clinicile de Boli Infecţioase, Pneumologie şi Cardiologie:

a) Lotul I: 280 hemoculturi - pe perioada ianuarie-decembrie 1990;
b) Lotul II: 360 hemoculturi - pe perioada ianuarie-decembrie 2000.

Material şi metodă - lot I

S-au utilizat flacoane de cultură preparate de I.C. Bucureşti (90 ml Bulion pentru hemoculturi cu sodiu Polyanetholsulfonat).

Mediul de cultură conţine o peptonă superioară, fosfaţi de Na^+ si K^+, amidon, L-cisteină, acid tioglicolic, NaCl, agar şi S.P.S. (pH = 7,2- 7,4).

Protocolul de lucru a fost cel clasic, iniţial cultivarea şi termostatarea la 37° C timp de 7 zile, urmată de examen microscopic al culturii, apoi efectuarea de subculturi pe medii solide la 48 de ore şi la 6 zile, cu incubare dublă aerobă şi anaerobă.

Material si metodă - lot II

S-a utilizat un sistem automat de hemoculturi BACTEC 9060 (Becton Dikinson S.U.A.) cu flacoane speciale: Plus AEROBIC/F, Plus ANAEROBIC/F, PEDS Plus, MYCOZIS I.C./F. Aparatul asigură o incubare la 37°C, monitorizare continuă la 10 minute până la pozitivare sau până la sfârşitul protocolului fixat precum şi achiziţia şi stocarea datelor. Principiul de funcţionare este bazat pe fluorescenţa şi decelarea de CO_2 produs în cursul creşterii microbiene. În

momentul semnalului pozitiv - acustic şi vizual - flaconul este extras, se efectuează frotiuri şi subculturi pe medii solide în funcţie de etiologie.

Pentru identificare rapidă s-au folosit truse de latex aglutinare şi teste biochimice minimale, iar antibiograma s-a efectuat prin metoda difuzimetrică Kirby-Bauer.

Mediul de cultură folosit a fost mediul Muler-Hinton recomandat de NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards), cu următoarele caracteristici: (a) posedă valoare nutritivă care permite dezvoltarea optimă a unei mari varietăţi de germeni; (b) nu conţine inhibitori ai acţiunii unor substanţe antimicrobiene.

Concentraţia gelozei din mediu a fost de 1,5-1,7%, grosimea stratului de mediu 4mm iar pH = 7,2-7,4.

Inoculul a fost reprezentat de tulpina microbiană testată în vârstă de 18-20 de ore, pentru care 4-6 colonii identice au fost suspensionate în bulion (inocul reprezentativ).

Turbiditatea a fost de 0,5 u McFarland pentru aerobi sau 1 u McFarland pentru anaerobi şi pentru alte microorganisme pretenţioase care sunt distruse rapid şi posedă capsulă.

Selecţia antibioticelor s-a efectuat ţinând seama de aspectul clinic al infecţiei, datele epidemiologice şi arsenalul de antibiotice de care am dispus.

S-au folosit discuri standard produse de compania Oxoid, Becton Dikinson şi Labormed Bucureşti, zonele de inhibiţie încadrându-se conform diametrelor critice indicate de firma producătoare.

Controlul intern de calitate s-a efectuat cu tulpinile de referinţă E. coli ATCC 25922 şi Staphylococus aureus ATCC 25923.

Rezultate

Lot I (280 hemoculturi/1990)

Din cele 280 de hemoculturi s-au izolat 22 de germeni, reprezentând un procent de pozitivitate de 8%. Din aceştia, pe un număr de 15 culturi (70%) s-a identificat *Staphylococus aureus*, pe 7 culturi (30%) *Enterobacteriaceae*, pe 4 culturi *E. coli*, pe 2 culturi *Klebsiella pneumoniae* şi pe una *Salmonella gr.B.*

Rezultatele testării sensibilităţii şi rezistenţei la substanţe antimicrobiene sunt redate în figurile 1 şi 2 şi au evidenţiat:

a) sensibilitatea - în urmă cu 10 ani, tulpinile de *Enterobacteriaceae* erau sensibile în proporţie de 90-100% la: cloramfenicol (C), colimicină (Co), gentamicină (GM), sulfametoxazol (SXT); iar tulpinile de *Staphylococus aureus* atingeau valori ale sensibilităţii de 75-100% la: rifampicină (RA), GM şi lincomicină (L).

b) patternul de rezistenţă cel mai frecvent a fost pentru *Enterobacteriaceae* la ampicilină (AM), tetraciclină (Te), SXT, iar pentru *Staphylococus aureus* la AM, penicilină (P), Te, C.

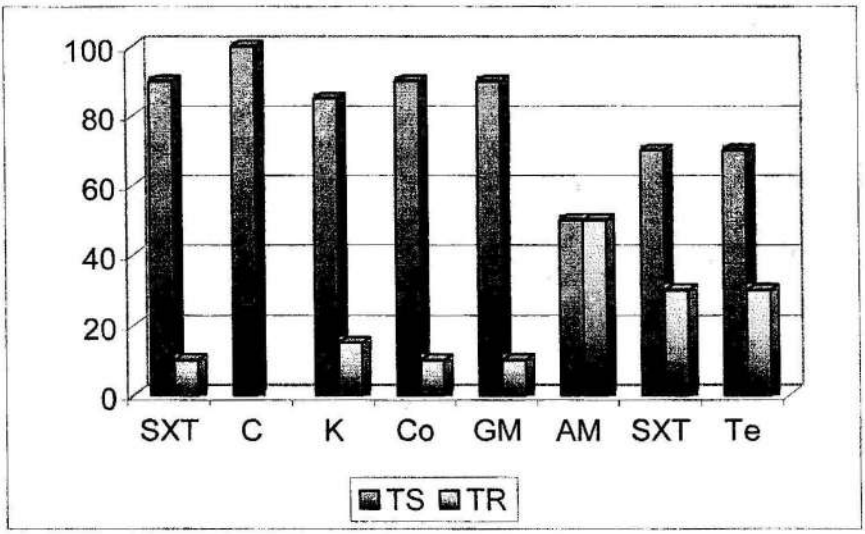


Fig. 1. Rezistența/Sensibilitatea la ATB şi chimioterapice la tulpinile de *Enterobacteriaceae* (1990)

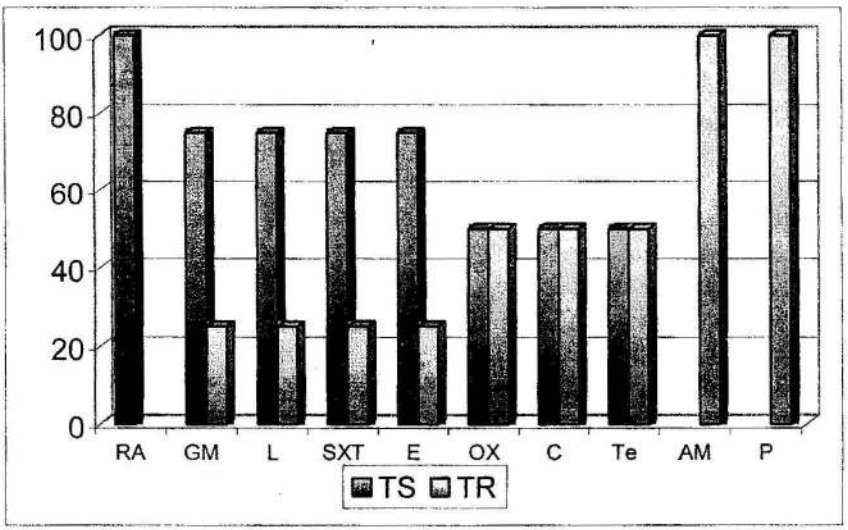


Fig. 2. Rezistența/Sensibilitatea la ATB şi chimioterapice la tulpinile de *Staphylococcus aureus* (1990)

Lot II (360 hemoculturi/2000)

Din cele 360 de hemoculturi s-a izolat cu ajutorul sistemului automat BACTEC 9060, un număr de 54 de germeni, reprezentând un procent de pozitivitate de 15%.

Repartiţia procentuală a izolărilor a fost următoarea: *Enterobacteriaceae* în16 cazuri (28%); *Staphylococus aureus* în 8 cazuri (16%); *S. viridans* în 8 cazuri (16%); *N.meningitidis* în 4 cazuri (8%); *H. influenzae* în 4 cazuri (8%); 14 cazuri (24%) cu alte etiologii: *Str.β hemolitic* gr. B (3), *Ps. aeruginosa* (6), *Criptococus neoformans* (1), *Peptococus* (1), *Str. pneumoniae* (3).

Numărul dublu de izolări la acest lot are şi explicaţii epidemiologice, dar ţine mai ales de performanţa metodei automatizate şi de calitatea net superioară a mediilor de cultură care permit dezvoltarea celor mai pretenţioşi germeni. După 10 ani, gama izolărilor s-a diversificat şi raportul *Staphylococus / Enterobacteriaceae* s-a inversat.

Faţă de anul 1990, în anul 2000, arsenalul terapeutic a fost mult lărgit prin apariţia de fluorochinolone, cefalosporine de diferite generaţii şi carbapeneme.

Rezultatele testării sensibilităţii şi rezistenţei la substanţe antimicrobiene sunt redate în fig 3 şi 4 şi au evidenţiat următoarele aspecte:

a) sensibilitatea - apar noi sensibilităţi la recent introdusele cefalosporine: cefotaximul (CRO), ceftazidină (CAZ) - în medie de 60%. Dintre fluorochinolone, ciprofloxacinul (CIP) şi ofloxacinul (OFX) se remarcă a fi cele mai eficiente (S 90%), pentru că la norfloxacin (NOR) să apară deja o rezistenţă de 15%. Se remarcă sensibilitatea de100% la imipenem (IPM).

b) patternul de rezistenţă - rezistenţa tulpinilor de *Enterobacteriaceae* la antibioticele uzuale (AM, C, SXT) se menţine la un procent ridicat de 80%. În cazul tulpinilor de *S. aureus* se menţine o rezistenţă de 100% la augmentin (AMC) şi P.

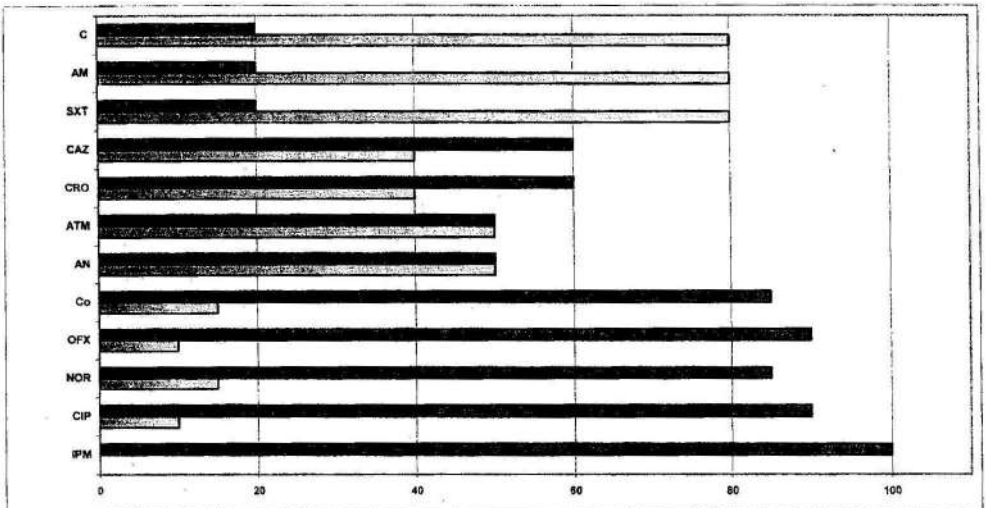
Din punct de vedere al eficienţei antimicrobiene testate pe tulpini de *Enterobacteriaceae*, ele se pot structura în 3 grupe, semnificativ mai eficiente fiind cele din prima grupă:

- **Grupa I:** IMP, CIP, NOR, OFX, Co;
- **Grupa II**: amikacină (AN), aztreonam (ATM), CRO, CAZ;
- **Grupa III:** SXT, AM, C.

Din punct de vedere al rezistenţei tulpinilor de *S. aureus,* un procent îngrijorător de 30% îl reprezintă tulpinile de SAMR (*S. aureus* meticilino rezistent). În ceea ce priveşte analiza de laborator, este important de subliniat faptul că rezistenţa acestui stafilococ trebuie considerată drept rezistenţă la familia β-lactaminelor. SAMR prezintă frecvent rezistenţă multiplă la antibiotice.

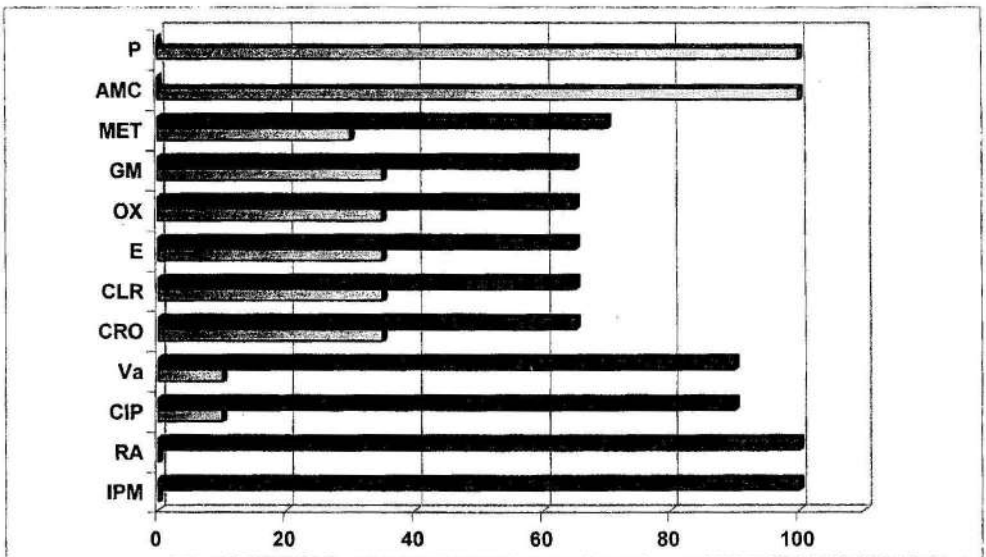
Incidenţa rezistenţei la eritromicină (E), GM sau Te, luate separat sau împreună este mai ridicată în cazul SRM decât la S. sensibili la meticilină.

Singurul antibiotic împotrivă căruia izolatele clinice de *S aureus* sau *S epidermidis* nu prezintă rezistenţă semnificativă este vancomicina (VA). Se remarcă şi sensibilitate crescută la carbapeneme (IPM -100%), fluorochinolone (CIP- 90%) şi cefalosporine (CRO - 65%).



	IPM	CIP	NOR	OFX	Co	AN	ATM	CRO	CAZ	SXT	AM	C
TulpS	100	90	85	90	85	50	50	60	60	20	20	20
TulpR	0	10	15	10	15	50	50	40	40	80	80	80

Fig. 3. Rezistența/Sensibilitatea la ATB şi chimioterapice la tulpinile de *Enterobacteriaceae* (2000)



	IPM	RA	CIP	Va	CRO	CLR	E	OX	GM	MET	AMC	P
Tulp.S	100	100	90	90	65	65	65	65	65	70	0	0
Tulp.R	0	0	10	10	35	35	35	35	35	30	100	100

Fig. 4. Rezistența/Sensibilitatea la ATB şi chimioterapice la tulpinile de *Staphylococcus aureus* (2000)

Concluzii

Este general acceptat faptul că rezistența antimicrobiană a devenit o importantă variabilă care influențează evoluția pacientului (Kollef şi colab., 2001; Goldmann şi colab., 1996, Waldvogel, 1999) [5-7]. Bacteriile care prezintă rezistență la antibiotice, atât cele gram pozitive cât şi cele gram negative, sunt incriminate ca importantă sursă de infecții nosocomiale (Hanberger şi colab., 1999, Sieradzki şi colab., 1999, Smith şi colab., 1999) [8-10]. În numeroase circumstanțe, în special la cazurile de infecții cu *Enterococus faecium* rezistent la Vancomicină şi bacterii gram negative sintetizatoare de β- lactamaze cu spectru larg şi rezistență la numeroase clase de antibiotice, rămân eficienți puțini agenți antimicrobieni. În acest sens au existat recent numeroase semnale de intensificare a eforturilor în scopul unui mai bun control asupra apariției şi răspândirii infecțiilor generate de germeni cu rezistență la antibiotice (Goldmann şi colab., 1996, Schlaes, 1997) [6,11].

Numeroase studii clinice asupra rezistenței la antibiotice au fost realizate în cadrul a secțiilor de terapie intensivă (Kollef şi colab., 2001; Goldmann şi colab., 1996, Archibald, 1997) [5,6,12). Aceste împrejurări clinice prezintă relevanță datorită game largi de factori care amplifică manifestările şi apariția infecțiilor cu germeni rezistenți. Astfel de factori sunt utilizarea antibioticelor cu spectru larg, aglomerarea pacienților cu infecții de mare gravitate în zonele specializate, relativ mici, ale spitalelor; reducerea personalului secundar din motive economice şi prezența mai multor bolnavi cu afecțiuni acute şi cronice care necesită spitalizare prelungită şi deseori sunt purtători de germeni rezistenți, aşa cum arată studiile lui Haley şi colab., 1992 şi McGowan, 1991 [13,14].

Utilizarea terapiei antimicrobiene este un factor determinant în apariția infecțiilor bacteriene rezistente la antibiotice. Unii cercetători, ca Ortiz şi colab., 1999 şi Kaplan, 1998 au demonstrat o asociere strânsă între utilizarea antibioticelor şi apariția ulterioară a rezistenței la antibiotice atât la bacteriile gram negative, cât şi gram pozitive [15,16].

Alți factori de risc, ca spitalizarea prelungită, predispun pacienții la infecții cu germeni rezistenți la antibiotice (Trouillet şi colab., 1998, Bonten şi colab., 1998) [17,18]. Acest fapt se poate datora, parțial, probabilității mai mari de colonizare în timp cu astfel de germeni atât prin transmiterea orizontală nosocomială, cât şi prin apariția endogenă a rezistenței. De asemenea, utilizarea procedurilor invazive (intubare endotraheală, cateterism intravascular, sonde urinare) favorizează astfel de infecții. Un alt factor important pentru propagarea rezistenței îl reprezintă apariția focarelor de infecții cu germeni rezistenți la antibiotice, din cauza utilizării instrumentarului contaminat, nerecunoaşterii prezenței unei rezistențe la antibiotice sau practicilor inadecvate de control a infecției (Richards şi colab., 1999) [19].

Infecțiile cu germeni rezistenți la antibiotice sunt asociate în general cu mortalitatea intraspitalicească ridicată şi cu prelungirea duratei de internare [5,6]. Colonizarea şi infecția cu germeni rezistenți la antibiotice creşte posibilitatea ca

pacienţii să primească tratament antimicrobian neadecvat - definit ca utilizarea de antibiotice cu activitate *in vitro* slabă sau inexistentă asupra microorganismelor cauzatoare ale infecţiei. Exemple de tratament neadecvat sunt eşecul utilizării terapiei antimicrobiene pentru o anume clasă de bacterii şi administrarea de agenţi antimicrobieni la care bacteriile infectante sunt rezistente (tratamentul cu nafcilină în pneumonia atribuită ulterior unui *S. aureus* meticilin-rezistent). Câteva studii au demonstrat o asociere puternică între tratamentul antibiotic neadecvat şi mortalitatea intraspitalicească a pacienţilor cu pneumonie asistaţi ventilator (Kollef şi colab., 2001,1998) [5,20]. După Luna şi colab. (1997), şi mai important este faptul că schimbarea terapiei antimicrobiene pe baza rezultatelor ulterioare ale hemoculturilor poate să nu reducă riscul de mortalitate intraspitalicească în cazul pacienţilor care primesc iniţial un tratament antibiotic neadecvat [21].

Germenii gram pozitivi rezistenţi la antibiotice, ca *S. aureus* meticilin-rezistent, pot exprima factori de virulenţă care vor contribui la o mortalitate asociată înaltă. Totuşi nu toate studiile au demonstrat mortalitate mai ridicată secundară infecţiilor cu *S. aureus* meticilin-rezistent, comparativ cu *S. aureus* meticilin-sensibil (Archer, 1998, Schentag şi colab., 1998) [22,23].

Tulpinile de enterococ au devenit agenţi etiologici tot mai frecvenţi ai infecţiilor nosocomiale. Bacteriemia enterococică are o rată a mortalităţii cuprinsă între 42% şi 72% (Vergis şi colab., 2001, Edmond şi colab., 1995) [24,25), şi este frecventă în rândul pacienţilor taraţi şi a celor cu alte boli asociate (Shay şi colab., 1995) [26]. Enterococii au rezistenţă scăzută la peniciline, aminoglicozide şi clindamicină şi sunt natural rezistenţi la cefalosporine. Germenii din această clasă pot deveni rezistenţi la alte antibiotice, ca beta-lactamine, aminoglicozide şi glicopeptide.

A fost raportată tot mai frecvent rezistenţa la antibiotice multiple, în special la vancomicina asociată des cu rezistenţa la ampicilină şi aminoglicozide. Mai mult de 20% din enterococii izolaţi din secţiile de terapie intensivă prezintă rezistenţă la vancomicină. Asocierea acestei rezistenţe la vancomicină cu rezistenţa crescută la ampicilină şi aminoglicozide limitează mult măsurile terapeutice posibile în cazul infecţiei cu aceşti germeni.

În aceste condiţii, se urmăreşte în permanenţă obţinerea de agenţi antimicrobieni noi, cu spectru de activitate mai larg. Totuşi, de fiecare dată, rezistenţa a apărut pentru oricare din agenţii antimicrobieni introduşi în practica clinică (Hancock, 1997) [27].

Sub presiunea terapiei antibiotice chimiosensibilitatea germenilor implicaţi în procesul infecţios este în continuă schimbare. În urma testării *in vitro* rezultă că noile fluorochinolone, cefalosporine generaţia III, sau carbapenemele sunt foarte eficiente în tratamentul infecţiilor de gravitate maximă.

Este necesar, ţinând cont de contraindicaţiile lor în cazul copiilor şi de posibilitatea selectării rezistenţei multiple la antibiotice, să folosim şi alte substanţe antimicrobiene de rezervă.

Tehnica de hemocultură trebuie efectuată după reguli stricte, pentru a contrabalansa intermitenţa şi nivelul uneori scăzut al bacteremiei şi pentru a inhiba

proprietăţile antimicrobiene ale compuşilor sanguini. Printre variabilele care pot afecta rezultatele, cele mai importante sunt volumul de sânge recoltat, sistemul utilizat pentru cultivare şi procedeul de examinare al culturii. Majoritatea autorilor recomandă a se recolta cel puţin 10 ml de sânge (ideal 20-30 ml), separat, pentru fiecare din două sau trei hemoculturi (Thorpe şi colab., 1990, Isaacman şi colab., 1996) [28,29].

În sistemul BACTEC 9060 rata de recuperare a germenilor este mult mai mare, gama etiologică mult mai diversă şi timpul de izolare considerabil mai scurt (Krisher şi colab., 1993, Hardy şi colab., 1992, Wilson şi colab., 1993) [28-32]. Prin stabilirea rapidă a diagnosticului bacteriologic este posibilă şi scurtarea timpului de efectuare a antibiogramei şi implicit posibilitatea aplicării rapide a unui tratament corespunzător.

Bibliografie

1. KEMPF V.A.J, TREBESIUS K, AUTENRIETH I.B, Rapid Identification of Pathogens in Blood; Ann Intern Med; 2000, 132, 330-331
2. TREBESIUS K, HARMSEN D, RAKIN A, SCHMELZ J, HEESEMANN J, Development of rRNA-targeted PCR and in situ hybridization with fluores-cently labelled oligonucleotides for detection of Yersinia species, J Clin Microbiol, 1998, 36, 2557-2564
3. WHITE AC JR, ATMAR RL, WILSON J, CATE TR, STAGER CE, GREENBERG SB, Effects of requiring prior authorization for selected antimicrobials: expenditures, susceptibilities, and clinical outcomes, Clin Infect Dis, 1997, 25, 230-239
4. SOUVENIR D, ANDERSON DE JR, PALPANT S, MROCH A, ASKIN S, ANDERSON J, Blood cultures positive for coagulase-negative staphylococci: antisepsis, pseudobacteremia, and therapy of patients, J Clin Microbiol, 1998, 36, 1923-1926
5. KOLLEF MH, FRASER VJ, Antibiotic Resistance in the Intensive Care Unit, Ann Intern Med, 2001, 134, 298-314
6. GOLDMANN DA, WEINSTEIN RA, WENZEL RP, TABLAN OC, DUMA RJ, GAYNES RP, Strategies to prevent and control the emergence and spread of antimicrobial-resistant microorganisms in hospitals. A challenge to hospital leadership, JAMA, 1996, 275, 234-240
7. WALDVOGEL FA, New resistance in *Staphylococcus aureus*, N Engl J Med, 1999, 340, 556-557
8. HANBERGER H, GARCIA-RODRIGUEZ JA, GOBERNADO M, GOOSSENS H, NILSSON LE, STRUELENS MJ, Antibiotic susceptibility among aerobic gram-negative bacilli in intensive care units in 5 European countries, JAMA, 1999, 281, 67-71
9. SIERADZKI K, ROBERTS RB, HABER SW, TOMASZ A. The development of vancomycin resistance in a patient with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection. N Engl J Med, 1999, 340, 517-523
10. SMITH TL, PEARSON ML, WILCOX KR, CRUZ C, LANCASTER MV, ROBINSON-DUNN B, Emergence of vancomycin resistance in *Staphylococcus aureus*, N Engl J Med. 1999, 340, 493-501
11. SCHLAES DM, GERDING DN, JOHN JF JR, CRAIG WA, BORNSTEIN DL, DUNCAN RA, Society for Healthcare Epidemiology of America and Infectious Diseases Society of America Joint Committee on the Prevention of Antimicrobial Resistance: Guidelines for the prevention of antimicrobial resistance in hospitals. Clin Infect Dis, 1997, 25, 584-599
12. ARCHIBALD L, PHILLIPS L, MONNET D, MCGOWAN JE, TENOVER F, GAYNES R, Antimicrobial resistance in isolates from inpatients and outpatients in the United States: increasing importance of the intensive care unit, Clin Infect Dis, 1997, 24: 211-215
13. HALEY RW, BREGMAN DA, The role of understaffing and overcrowding in recurrent outbreaks of staphylococcal infection in a neonatal special-care unit, J Infect Dis, 1992, 145, 875-85

14. MCGOWAN JE, Antibiotic resistance in hospital bacteria: current patterns, modes for appearance or spread, and economic impact, Rev Med Microbiol, 1991, 2, 161-169
15. ORTIZ J, VILA MC, SORIANO G, MINANA J, GANA J, MIRELIS B, Infections caused by *Escherichia coli* resistant to norfloxacin in hospitalized cirrhotic patients. Hepatology, 1999, 29:1064-1069
16. KAPLAN SL, MASON EO JR, BARSON WJ, WALD ER, ARDITI M, TAN TQ, Three-year multicenter surveillance of systemic pneumococcal infections in children, Pediatrics, 1998, 102, 538-545
17. TROUILLET JL, CHASTRE J, VUAGNAT A, JOLY-GUILLOU ML, COMBAUX D, DOMBRET MC, Ventilator-associated pneumonia caused by potentially drugresistant bacteria, Am J Respir Crit Care Med, 1998, 157, 531-539
18. BONTEN MJ, SLAUGHTER S, HAYDEN MK, NATHAN C, VAN VOORHIS J, WEINSTEIN RA. External sources of vancomycin-resistant enterococci for intensive care units, Crit Care Med, 1998, 26, 2001-2004
19. RICHARDS MJ, EDWARDS JR, CULVER DH, GAYNES RP., Nosocomial infections in medical intensive care units in the United States. National Nosocomial Infections Surveillance System, Crit Care Med. 1999, 27, 887-892
20. KOLLEF MH, WARD S, The influence of mini-BAL cultures on patient outcomes: implications for the antibiotic management of ventilator-associated pneumonia, Chest. 1998, 113, 412-420
21. LUNA CM, VUJACICH P, NIEDERMAN MS, VAY C, GHERARDI C, MATERA J, Impact of BAL data on the therapy and outcome of ventilator-associated pneumonia. Chest, 1997, 111, 676-685
22. ARCHER GL, *Staphylococcus aureus*: a well-armed pathogen. Clin Infect Dis. 1998;26:1179-81. [PMID: 0009597249]
23. SCHENTAG JJ, HYATT JM, CARR JR, PALADINO JA, BIRMINGHAM MC, ZIMMER GS, Genesis of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus (MRSA),* how treatment of MRSA infections has selected for vancomycin-resistant *Enterococcus faecium,* and the importance of antibiotic management and infection control, Clin Infect Dis, 1998, 26, 1204-1214
24. VERGIS EN, HAYDEN MK, CHOW JW, SNYDMAN DR, ZERVOS MJ, LINDEN PK, WAGENER MM, Determinants of Vancomycin Resistance and Mortality Rates in Enterococcal Bacteremia, Ann Intern Med, 2001,135, 484-492
25. EDMOND MB, OBER JF, WEINBAUM DL, PFALLER MA, HWANG T, SANFORD MD, Vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* bacteremia: risk factors for infection. Clin Infect Dis, 1995, 20, 1126-1133.
26. SHAY DK, MALONEY SA, MONTECALVO M, BANERJEE S, WORMSER GP, ARDUINO MJ, Epidemiology and mortality risk of vancomycin-resistant enterococcal bloodstream infections, J Infect Dis, 1995, 172, 1993-1000
27. HANCOCK RE, The role of fundamental research and biotechnology in finding solutions to the global problem of antibiotic resistance, Clin Infect Dis, 1997, 24: S148-S150
28. THORPE TC, WILSON ML, TURNER JE, DIGUISEPPI JL, WILLERT M, MIRRETT S, BacT/Alert: an automated colormetric microbial detection system, J Clin Microbiol, 1990, 20, 1608-1612.
29. ISAACMAN DJ, KARASIC RB, REYNOLDS EA, KOST SI, Effect of number of blood cultures and volume on detection of bacteremia in children, J Pediatr, 1996, 128, 190-195
30. KRISHER KK, WHYBURN DR, KEOPNICK FE, Comparison of the BacT/Alert pediatric blood culture system, Pedi-BacT, with conventional culture using the 20-milliter Becton-Dickinson supplemented peptone broth tube, J Clin Microbiol, 1993, 31, 793-797
31. HARDY DJ, HULBERT BB, MIGNEAULT PC, Time to detection of positive BacT/Alert blood cultures and lack of need for routine subculture at 5- to 7-day negative cultures, J Clin Microbiol, 1992, 30, 2743-2745
32. WILSON ML, MIRRETT S, RELLER LB, WEINSTEIN MP, REIMER LG. Recovery of clinically important microorganisms from the BacT/Alert blood culture system does not require testing for seven days, Diag Microbiol Infect Dis, 1993, 16, 31-34

GHID DE ANTIBIOTICOTERAPIE CU ROL ÎN MONITORIZAREA INFECȚIILOR NOSOCOMIALE ŞI A REZISTENȚEI LA ANTIMICROBIENE

Doina Azoicăi*, Doina Carmen Corcaci**, Daniela Diculencu ***
Universitatea de Medicină şi Farmacie "Gr.T.Popa", Iaşi
**Catedra de Epidemiologie*
*** Spitalul Clinic de Boli Infecţioase, Iaşi*
**** Spitalul Clinic de Pneumologie, Iaşi*

Abstract
In modern medicine, complying and using the guidelines is not optional. The impact of antibiotic therapy on microbial ecology, on one hand, and of bacterial resistance on the use of antibiotics, on the other hand, require permanent assessment aimed at surpassing the difficulties. The guidelines for antibiotic therapy individualized for every medical service (specialty) have to facilitate the choice of the old but especially of the new antimicrobial molecules, and the selection of the most accurate posology and administration depending on their particularities. This document also proves highly useful by: recommendations on antibiotic prophylaxis and first choice therapy, teaching the young doctors to corectly monitor the therapy based on the clinical background and cost/benefit; evidence for the evolution of bacterial resistance and the use of "golden standards" for controlling the phenomenon; more accurate prescriptions; source of information and at the same time role in continuous post/graduate training. The guidelines for antibiotic therapy for the medical practice in the Lung Diseases Hospital of Iasi (first edition, 2002) come in support of the factors faced with the difficulties of antimicrobial treatment in patients with community/acquired or nosocomial infections. The useful information, schematic, applicable, representative, and varied are included in the chapters on: pathogenic agents involved in the respiratory diseases; peculiarities of first choice or etiology-related antibiotic therapy; antibiotic prevention in surgery; approximate cost of the preparations used in the hospital etc. The analysis of the microbiological results with respect to the 282 bacterial strains of clinical significance, isolated from admitted patients during the first six months of the year 2002, made possible the detection of numerous pathogens with variable resistance to the testet antibiotics. The guidelines also include recommendations for the use of some antibiotics, depending on the resistance particularities of the isolated circulating strains. Additional to these are recommendations regarding hand hygiene and patients'

isolation, thus giving the guidelines a role in the monitoring of nosocomial infections and resistance to antimicrobial agents.

Infecţiile nosocomiale, ca urmare a frecvenţei şi gravităţii lor, pun numeroase probleme legate de terapie şi prevenţie. Este unanim acceptat că recunoaşterea şi raportarea infecţiilor nosocomiale este o datorie a medicului care se înscrie în normativele deonotologice de practicare a medicinei. Standardizarea metodelor de diagnostic prin existenţa definiţiei de caz şi a criteriilor clinice, paraclinice şi microbiologice constituie o modalitate accesibilă şi uşor de realizat în depistarea precoce a acestor infecţii. Nerecunoaşterea lor datorită unei pregătiri medicale deficitare sau chiar ascunderea prezenţei acestora datorită unor idei preconcepute de culpabilitate împiedică adoptarea măsurilor de urgenţă utile salvării bolnavului şi limitării riscului de epidemizare. În sistemul de supraveghere actual al infecţiilor nosocomiale, care este un sistem elastic, cu posibilităţi de adaptare la caracteristicile fiecărei unităţi medicale şi a circumstanţelor epidemiologice particulare acesteia, echipa : clinician, microbiolog, infecţionist, epidemiolog şi farmacist este formată pentru ca prin colaborare să găsească soluţiile optime reducerii la maximum a riscului de apariţie şi extindere a acestui fenomen inerent, întâlnit în condiţiile prestărilor medicale actuale. (7,10,12,18,29)

Supravegherea epidemiologică a infecţiilor nosocomiale are obiective bine precizate, care se asociază şi se completează reciproc. Evaluarea practicilor şi procedurilor în relaţie cu controlul infecţiilor nosocomiale oferă posibilitatea aprecierii particularităţilor unor prestaţii cu caracter invaziv, care pot genera riscul apariţiei acestei patologii specifice. Monitorizarea infecţiilor nosocomiale este un alt obiectiv în cadrul supravegherii şi el este completat de cel referitor la identificarea cauzelor apariţiei şi evoluţiei infecţiilor de spital. Detectarea schimbărilor în nivelul şi formele de manifestare ale procesului epidemiologic în infecţiile nosocomiale demostrează caracterul permanent al supravegherii prin înregistrarea încă de la debut a unor fenomene premergătoare celor de tip epidemic sau izbucnire epidemică. Ca o dovadă a utilităţii acţiunilor de supraveghere printre alte obiective ale acestei activităţi de urmărire se înscrie şi aplicarea de urgenţă a măsurilor de control. Monitorizarea utilizării antibioticelor şi rezistenţei agenţilor patogeni circulaţi este un imperativ prioritar în circumstanţele actuale, fiind remarcată necesitatea conceperii unor ghiduri de antibioticoterapie pentru a fi utile practicii clinice. (1,3,11,20,27)

Medicina secolului XXI, sprijinită pe principiile clasice, dar şi pe cele moderne, generate de progresul metodelor de diagnostic, tratament şi de luare a deciziei adoptă sistemul Ghidurilor de practică. Astfel, International Federation of Infection Control recomandă ca în cazul Ghidurilor de antibioticoterapie să se respecte anumite condiţii: să fie efectuate după consultarea şi acordul mai multor specialişti; să fie simple, concise, accesibile nivelului de pregătire al oricărui medic sau cadru medical; să conţină informaţii asupra antibioticopreventiei, cu detalii

privind durata, doza, modul şi intervalul de administrare; să ofere scheme pentru alegerea terapiei de primă intenţie în infecţiile nosocomiale sau în infecţiile comunitare diagnosticate la bolnavii care au necesitat spitalizare; să ofere standarde pentru o bună utilizare a antibioticelor nu numai din punctul de vedere al regulilor de aplicare a acestora, dar şi prin adaptarea permanentă la condiţiile de evoluţie a rezistenţei bacteriene. (6,14,16,17,24,32)

În acest context general, cât şi datorită unor particularităţi semnalate în evoluţia infecţiilor nosocomiale în Spitalul Clinic de Pneumoftiziologie Iaşi a fost editat un "Ghid de antibioticoterapie pentru practica medicală", individualizat pentru problematica semnalată. (2,31,33)

Această primă ediţie a fost concepută pentru a veni în ajutorul medicilor confruntaţi cu dificultăţile tratamentului la cazurile cu infecţii comunitare şi nosocomiale şi pe care le întâlnesc frecvent în practica clinică. Un alt scop al acestui ghid este de a crea o conduită adecvată de antibioticoterapie ca urmare a faptului că riscul selecţiei unor agenţi patogeni circulanţi, cu rezistenţă crescută, este din ce în ce mai mare, toxicitatea diverselor categorii de droguri este de multe ori ignorată, iar preţul de cost creează dificultăţi în acţiunile de management ale spitalului. (4,9,23,34) Subliniem faptul că emergenţa unor germeni cu rezistenţă încrucişată la antibioticele actuale este constatată, chiar şi în cazul Spitalului Clinic de Pneumoftiziologie Iaşi. (13,26,28) Între numeroşii factori care explica această evoluţie a "presiunii" antibioticelor este prescrierea lor abuzivă, consecinţa frecventă a anxietăţii medicului în faţa unor cazuri. De aceea, am considerat că un principiu de bază, care face parte integrantă din "standardele de aur" ale antibioticoterapiei este ca atunci când se recomandă un antibiotic, medicul să judece foarte bine, să încerce să fie cât mai restrictiv şi să nu ezite să se consulte cu echipa formată din: colegul clinician, microbiologul, infecţionistul, epidemiologul şi farmacistul. (5,8,19,22)

Ghidul cuprinde mai multe capitole, schematic prezentate, care au fost considerate utile pentru practician: clasificarea principalilor agenti patogeni; clasificarea antibioticelor antibacteriene; denumirile comerciale ale medicamentelor antiinfecţioase; posologia şi efectele adverse ale antibioticelor; principiile generale în utilizarea corectă a antibioticelor; antibioticoterapia adaptată după etiologie; criterii de evaluare a pacientului cu indicaţie de antibioticoterapie; antibioticoterapia de primă intenţie la pacienţii cu infecţii respiratorii şi sitemice; antibioticoterapia la bolnavii cu imunodepresie; antibioticoprevenţia în chirurgie; rezistenţa la antibiotice a tulpinilor bacteriene circulate în Spitalul Clinic de Pneumoftiziologie Iaşi, în perioada ianuarie-iunie 2002; antibiotice utilizate în Spitalul de Pneumoftiziologie Iaşi; generalităţi (definiţii de caz, clasificare, factori de risc, măsuri de prevenire şi control) privind infecţiile nosocomiale; precauţii universale în infecţiile nosocomiale (igiena mâinilor, măsuri de izolare a bolnavilor). Chiar dacă ultimul capitol menţionat nu pare să facă parte din practica de antibioticoterapie, el completează însă informaţiile privind cunoaşterea precauţiilor universale pentru prevenirea transmiterii nosocomiale a agenţilor

patogeni de la pacient la pacient, de la pacient la personalul medical şi de la acesta la pacient. Contaminarea mâinilor personalului medical contituie cea mai frecventă metodă de transmitere nosocomială a microorganismelor multirezistente, circulante în mediul de spital. În acest scop, există reglementări care să permită respectarea strictă a acestor precauţii universale. În paralel, pacienţii colonizaţi cu agenţi patogeni potenţial transmisibili necesită măsuri urgente de izolare absolut justificate, fiind demonstrat faptul că 50-80% dintre infecţiile cu agenţi patogeni multirezistenţi sunt produse în urma contaminării persoanelor admise în spital cu flora bolnavilor deja colonizaţi. Totodată, precauţiile universale sunt utile protejării personalului medical care se afla frecvent expus la riscul de contaminare. (15,21,25,30,35)

Un capitol important, care face necesară actualizarea informaţiilor şi editarea anuală a acestui ghid practic este cel referitor la rezistenţa unor tulpini bacteriene circulate în Spitalul Clinic de Pneumoftiziologie Iaşi, în perioada ianuarie-iunie 2002. În mod particular, şi în Spitalul de Pneumoftiziologie Iaşi se remarcă o tendinţă de extindere a fenomenului de rezistenţă la antibiotice a diverselor tulpini microbiene, care generează riscul potenţial al unor evenimente epidemice de infecţie nosocomială. Atitudinea terapeutică materializată frecvent prin utilizarea antibioticelor necesită o judicioasă evaluare a alegerii preparatului cu cea mai mare eficienţă, cu nocivitatea cea mai redusă pentru pacient, cât şi a riscului de inducere a multirezistenţei care poate face dificilă vindecarea clinică şi poate creşte cheltuielile financiare. În acest context, evaluarea circulaţiei tulpinilor microbiene izolate în Spitalul de Pneumftiziologie Iaşi, în primele şase luni ale anului 2002 constituie un reper în conduita antibioticoterapiei care trebuie să fie rodul colaborării dintre clinician, microbiolog, infecţionist, epidemiolog şi farmacist.

Frecvenţa tulpinilor rezistente sau intermediar sensibile la antibiotice, izolate de la pacienţii internaţi în primele 6 luni în Spitalul de Pneumoftiziologie Iaşi, relevă un prag de risc înalt pentru declanşarea unor fenomene de tip epidemic prin infecţiile nosocomiale. De aceea a fost obligatorie reconsiderarea criteriilor de stabilire a antibioterapiei şi aplicarea preparatelor antimicrobiene în functie de particularităţile semnalate.

În cadrul laboratorului de microbiologie al spitalului au fost prelucrate 1670 de produse patologice recoltate în cursul evoluţiei bolnavilor spitalizaţi în secţia de Pneumologie, Chirurgie, ATI, Centrul de Diagnostic de Zi şi din care s-au izolat 282 tulpini cu semnificaţie clinică. Frecvenţa cea mai crescută a produselor din care s-au izolat aceste tulpini a fost de 33,9% pentru spută şi 27,0% pentru lichid sau produs din empiem pleural.

Pentru tulpinile bacteriene, sensibilitatea la antibiotice a fost testată prin metoda difuzimetrică. Prezenţa beta-lactamazelor inductibile a fost urmărită la izolatele de bacili Gram-negativ cu Imipenem ca agent inductor. Prezenţa beta-lactamazelor cu spectru extins a fost evaluată prin plasarea discului de Augmentin lângă discul de Ceftazidim. (Tabelul I)

Tabelul I. Patogeni respiratori izolati din diferite produse recoltate de la bolnavii spitalizati

Nr.crt	E	TE	RA	CIP	L	P	CN	C	FOX	K	SXT	KF	AMP	AMC	CRO	CTX
1			2	1			3	1		1	14	21	12	2	2	1
2	4	5			8	11	12			10	8	10	1			
3									2		5	15	10			

Nr.crt.	Tulpina	Total nr. tulpini
1	***Haemophilus influenzae***	29
2	***Streptococcus pneumoniae***	27
3	***Moraxella catharalis***	17

În infecţiile cu *Streptococcus pneumoniae*, tulpinile izolate au prezentat rezistenţă la Penicilina G în proporţie de 40,7% şi 44,4% pentru Gentamicină. Utilizarea acestor antibiotice se situeaza la cota de atenţie pentru clinician.

Pentru infecţiile pneumococice ar fi de preferat cumoaşterea CMI a Penicilinei cei mai multi autori recomandă tratamentul cu Penicilină în infecţiile determinate de tulpini cu *rezistenţă intermediară.*

Tulpinile de *Haemophilus influenzae* înregistrează rezistenţă pentru Ampicilină de 41,3% şi cu o pondere mai redusă de 6,9% pentru Amoxicilină + ac. clavulanic. În momentul actual se consideră că Amoxicilina + ac. clavulanic *poate fi* o bună alegere în terapia de primă intenţie a infecţiilor respiratorii cu această etiologie.

Moraxella catharalis întruneşte o rezistenţă de 59% pentru Ampicilină, dar pentru Amoxicilină + ac. clavulanic sensibilitatea este remarcată la toate tulpinile izolate.

Se poate aprecia din evaluările efectuate că în infecţiile acute respiratorii Amoxicilina + ac. clavulanic rămâne antibioticul de electie. (Tabelul II)

Tabelul II. Coci Gram-pozitiv izolaţi din diferite produse patologice recoltate de la bolnavii spitalizaţi

Nr. crt.	E	TE	RA	OX	CIP	TEC	L	P	CN	C	TOB	K	SXT	NOR	KF	AMP
1	20	25	19	**24**	13	4	**21**	18	21	3	19	17	11	2		
2	4	5		5			8	**11**	12			10	8		10	1
3	2	3	6	2			2	4	6			8	5	1	7	4
4												1			1	1

Nr. crt	Tulpina	Total nr. tulpini
1	***Staphylococcus aureus***	41
2	***Streptococcus pneumoniae***	27
3	***Streptococcus spp.***	12
4	***Streptococcus anginosus***	2

Infecţiile cu *Staphylococcus aureus* sunt cauzate de tulpini meticilino-rezistente (MTS) în proporţie de 58,5%. Eritromicina s-a dovedit a fi inactivă în 48,8% dintre tulpinile testate. Valori crescute ale rezistenţei sunt întâlnite şi pentru Rifampicină şi aminoglicozide (Tobramicină, Kanamicină). Dintre aminoglicozide, Gentamicina înregistrează o rezistenţă la cota de supraveghere. Din aceste considerente, nu vor fi recomandate în tratamentul de primă intenţie al infecţiilor stafilococice presupuse sau dovedite microbiologic antibiotice ca Rifampicina şi dintre aminoglicozide Tobramicina şi Gentamicina. Oxacilina rămâne tratamentul de elecţie în infecţiile determinate de *Staphylococcus aureus*, tulpini meticilino-sensibile. Se pot recomanda ca terapie de primă intenţie antibioticele: Clindamicina, Vancomicina, Teicoplamin, dar numai după evaluarea clinică, biologică şi paraclinică, în prezenţa rezultatului la antibiogramă, după consultarea echipei de specialişti. (Tabelul III)

Tabelul III. Bacili Gram-negativ din diferite produse patologice recoltate de la bolnavii spitalizaţi

Nr. crt.	SXT	KF	TIM	AMP	CS	SAM	FOX	NOR	TOB	CIP	IPM	CSD	AMC	CN	CRO	CAZ	CTX	CPO	CXM	MEM	CFP
1	16	32	1	30	17	9	8	1	2	2											
2	6	8	1	6	2	5	3		3	2	1	1*	5	2	4	2	3	3	3	2	
3	4	4		2		1	1			1			3	1			1	1	1		
4	4	7	1	6		1	2		1	2			4		3		1		1	1	
5	1	3	1	2		1	1		1	1			1		1		1		1		
6	3	3	1	3		2	1		3				3	1	2		2		3		
7	3	3	1	2		3	1		2				4		2		1		2		
8	2	3		2	2	1		1	2	1			2	1					3		
9	2	2		2			1		1				1		1				1		
10	2	4	2	3		3	1	1	2	2		1	3			1	1		3		
11	2	2	16	2		2	1	8	33	33	7	36	4	39	40		2	8	2	12	14
12	1	1		1													1				

Nr.crt	Tulpina	Total nr. tulpini
1	***Escherichia coli***	33
2	***Klebsiella pneumoniae***	8
3	***Klebsiella oxytoca***	4
4	***Klebsiella ozanae***	7
5	***Enterobacter cloacae***	3
6	***Serratia marcescens***	4
7	***Serratia spp.***	4
8	***Proteus mirabilis***	3
9	***Proteus vulgaris***	2
10	***Morganella morganii***	5
11	***Pseudomonas aeruginosa****	44
12	***Acinetobacter***	1

* IMP agent inductor de beta-lactamază la 10 tulpini izolate de *Pseudomonas aeruginosa* ; 4 tulpini cu sensibilitate absentă la toate antibioticele

În Spitalul Clinic de Pneumoftiziologie Iaşi au fost izolate tulpini de bacili Gram-negativ, ponderea cea mai crescută fiind înregistrată pentru *Pseudomonas aeruginosa* (37,3%), *E.coli* (28%) şi *Klebsiella pneumoniae* (6,8%). Din analiza antibiogramelor se remarcă faptul că tulpinile au rezistenţa cea mai crescută pentru Cotrimoxazol, Kefadin şi Ampicilină. Acelaşi aspect se semnalează la tulpinile de *Proteus, Acinetobacter, Morganella* (Tabelul IV).

Tabelul IV. Sensibilitatea la antibiotice pentru unele tulpini de bacili Gram-negativ

Tulpina	**SXT (%)**	**KF (%)**	**AMP (%)**
E.coli	48,5	97	91
Klebsiella pneumoniae	75	**100**	75
Klebsiella oxytoca	**100**	**100**	50
Klebsiella ozanae	57,2	**100**	86

Pentru tulpinile de *Pseudomonas aeruginosa*, din cele 44 izolate, ordinea descrescândă a frecvenţei rezistenţei a fost de 91% pentru Ceftriaxonă (CF3) şi 36,3% pentru Timentin (CF3). (Tabelul V)

Tabelul V. Sensibilitatea la antibiotice pentru tulpinile de *Pseudomonas aeruginosa*, izolate din diverse produse patologice

Antibiotic / agent patogen	**CRO (%)**	**CSD (%)**	**CIP (%)**	**TOB (%)**	**TIM (%)**	**CFP (%)**	**MEM (%)**
Pseudomonas aeruginosa	91	81,8	75	75	36,3	31,8	27,2

Se recomandă ca în etapa actuală a rezistenței tulpinilor de *Pseudomonas aeruginosa* circulante în Spitalul de Pneumoftiziologie Iași să nu se utilizeze ca antibiotice de prima intenție și să fie menținute de rezervă următoarele antibiotice: timentin, cefriaxonă, cefoperazonă, ciprofloxacină, gentamicină, tobramicină.

Lipsa rezistenței la Ceftazidimă și a rezistenței scăzute la fluorochinolonele de generația I (norfloxacin) recomandă aceste antibiotice a fi utilizate în infecțiile de organ sau sistemice (ceftazidimă, cefotaxim) și, respectiv, în infecțiile urinare (norfloxacin).

Utilizarea ampicilinei, sulfametoxazol+trimetoprim este de evitat in cazul infecțiilor cu alți bacili Gram-negativ (*E.coli, Klebsiella, Proteus*).

Comparând rezistența la ampicilină și ampicilină-sulbactam pentru toate tulpinile izolate se remarcă faptul că sunt intens producătoare de β-lactamază. Există discrepanțe majore între ampicilină și ampicilină-sulbactam, astfel încât rezistența tulpinilor de *E.coli* este de 27,2%, respectiv 91%. ampicilina-sulbactam poate fi folosită în etapa actuală și este o opțiune mai bună față de Ampicilină care se recomandă a fi evitată în toate infecțiile cu bacili Gram-negativ.

Tulpinile de *Pseudomonas aeruginosa*, dar și ceilalți bacili Gram-negativ au o prevalență crescută a rezistenței pentru Timentin®. Fiind un antibiotic de ultimă generație, cu spectru larg, cu bună penetrabilitate în țesuturi, dar și la un preț de cost crescut, se recomandă să se utilizeze la cazurile cu pneumonii severe sau sepsis, după confirmarea sensibilității prin antibiogramă și după consultul cu echipa de specialiști.

Imipenemul este o beta-lactamină de ultimă generație, cu penetrabilitate bună în țesutul pulmonar. Pentru etapele ulterioare este însă recomandată monitorizarea rezistenței tulpinilor, mai ales în cazul celor de *Pseudomonas aeruginosa*, pentru care există în prezent o rezistență de 16%.

Cefoperazona, meropenema și cefpiroma vor avea o utilizare limitată deoarece la tulpinile de *Pseudomonas aeruginosa* se remarcă o prevalență a rezistenței de 32%, 27,3%, respectiv 18%, ceea ce se consideră ca un fenomen de alarmă. Acest fenomen este mai puțin remarcat în cazul tulpinilor de *E.coli, Klebsiella, Enterobacter, Proteus, Morganella.*

În sinteza acestor date se recomandă ca în infecțiile presupuse sau dovedite ca fiind implicați bacilii Gram-negativ nu se vor administra ca antibiotice de primă intenție: ampicilină, cotrimoxazol. Rezistența se situează la cota de alarmă pentru tobramicină care nu va fi indicată în terapia de primă intenție. Deoarece rezistența pentru norfloxacină se situează la cota de alarmă, acest antibiotic este rezervat infecțiilor urinare și numai în concordanță cu rezultatul antibiogramei.

Terapia de primă intenție în infecțiile la care nu există suspiciunea implicării bacililor Gram-negativ (inclusiv *Pseudomonas aeruginosa*) este recomandată numai în cazul pacienților cu risc vital, fiind totodată obligatorie recoltarea în prealabil a produselor patologice în vederea examenului

microbiologic. În infecţiile a căror evoluţie este fără ameninţarea imediată a vieţii bolnavului, antibioterapia va fi dirijată numai după consultarea antibiogramei.

Se acceptă administrarea de primă intenţie a preparatelor: Timentin®, meropenem, cefpirom, cefoperazonă, dar numai după consultul cu echipa de specialişti.

În infecţiile nosocomiale cu *Pseudomonas aeruginosa* se va evita administrarea de primă intenţie a următoarelor antibiotice: ciprofloxacin, cefriaxonă, gentamicină tobramicină. Este recomandată terapia cu: ceftazidim, cefoperazonă, Timentin®, imipenem, dar numai după acordul echipei de specialişti.

În concluzie, Ghidul de antibioticoterapie individualizat la nivelul fiecărui spital trebuie să reprezinte un ajutor pentru medicul practician prin: recomandări scrise cuprinzând un minimum de strategii generale privind antibioticoprofilaxia şi antibioticoterapia de primă intenţie; rol de educare a medicilor pentru conduita corectă în monitorizarea administrării antibioticelor; obiectivarea evoluţiei rezistenţei bacteriene la antibiotice şi stabilirea strategiilor de limitare a fenomenului; monitorizarea utilizării antibioticelor şi rezistenţei agenţilor patogeni circulanţi; ameliorarea prescripţiilor de antibiotice prin măsurile educative şi administrative prin asigurarea concomitentă a formării medicale continue postuniversitare; adaptarea recomandărilor de utilizare a antibioticelor în paralel cu evaluarea consecinţelor asupra ecologiei bacteriene de la nivelul spitalului sau comunităţii, integrând raportul cost/beneficiu.

Bibliografie

1. ANGELESCU M, Terapia cu antibiotice. Edit. Medicală Bucureşti, 1998
2. AZOICĂI D, FOCHI M, DICULENCU D et al., Incidenţa infecţiilor nosocomiale şi circulaţia unor tulpini bacteriene multiplurezistente la antibiotice într-un spital universitar cu profil de pneumologie; Rev Med Chir, 2002, 106, Supl 1, 123-128
3. BEGAUD B, DANGOUMAU, Pharmaco-epidemiologie: définition, problèmes, méthodologie, Thérapie, 2000, 55, 113-117
4. BERGOGNE-BEREZIN E, Difusion des bactéries multiresistantes, Eurobiologiste, 2000, 34, 246, 97-103
5. BUIUC D, Particularităţi ale relaţiei microb-gazdă în mediul de spital. Colonizarea de spital şi infecţia nosocomială, Rev Med Chir, 1981,1,185-188
6. BYL B, STRUELENS M J, Pour l'approche intégrée du microbiologiste et de l'infectiologue dans la prise en charge hospitalière des infections, Lettre Infectiol, 2001, 16, 8-9, 258- 260
7. CARLET J, Infections nococomiales. Quels enjeux pour l'an 2000 ?, Communication Partenaires Sante, No.special, 1995
8. CĂRUNTU FL, CĂRUNTU FL JR, Vademecum de antibioticoterapie, Edit. Info Medica, Bucureşti, 1998
9. CHIOTAN N, SETLACEC D, Probleme actuale ale infecţiilor chirurgicale, Edit. Naţional, Bucureşti, 2000
10. CORCACI D C, MIFTODE E, TEODORESCU I, Terapia fungică sistemică, Update, Bucureşti, 1998, 4, 6, 393-397
11. DAJANI A, Beta-lactam resistance minimizing the risk of therapy failure, J International Med Research, 2002, 30, suppl 1, 1A-33A

12. DEAC L, Infecţiile nosocomiale, Edit. Dacia, Cluj- Napoca, 1997
13. DICULENCU DANIELA, MITREANU G, Rezistenţa la penicilină a tulpinilor de *Streptococcus pneumoniae* izolate în infecţii respiratorii, Rev Med Chir, 2002, supliment 1, 106, 61-64
14. EDMOND M B, WENZEL R P, Nosocomial Infections. Organization for Infection Control, In: Mandell, Douglas, Bennett's, Principles and Practice of Infectious Disease, Livingstone, New York, 5-th ed., 2000, 2988-3019
15. EDWARDS J E,BODEY G P,BOWDEN R A, International conference for the development of a consensus on the management and prevention of severe candidate infections, Clin Infect Dis, 1997, 25,43-59
16. GARDNER P,KLIMEK J J, Infections acquises en milieu hospitalier, In Harrison- Principles de Medecine Interne, 5-e edit, Editors J D Wilson, E Braunwald, edit Medicine-Sciences, Flammarion, 1992,468-471
17. GILBERT D N, MOELLERING R C JR, SANDE M A, The Sanford Guide to Antimicrobial Therapy, 50-edit, 2000
18. IVAN A, Infecţiile nosocomiale: trecut, prezent şi viitor, Rev Microbiol Virusol Epidemiol Parazitol, 1994,39,3-4,161-167
19. LEOPHONTE P, MURRIS M, Evaluation de la place des antibiotiques dans BPOC, Lettre Infectiol, 2002, 17, 1-2, 12-20
20. LUCA V., CARMEN MIHAELA DOROBAT, GH. DOROBAT, Terapia intensivă în bolile infecţioase severe, Tehnopress, Iasi, 2001
21. MANDELL, DOUGLAS, BENNETT'S, Principles and Practice of Infectious Disease, 5-th ed., 2000
22. VAN DER MEER J W, GYSSENS I C, Quality of microbial drug prescription in hospital, Clin Microlol Infect Dis (CIM), 2001, 7 , suppl 6, 12-15
23. MIHALACHE D, LUCA V, TURCU T ET AL, Manifestări clinice determinate de bacterii plurirezistente, Rev Med Chir, 2002, 106, supl1, 37-43
24. VINCENT J L, BIHARI D J, SUTER P M, The prevalence of nosocomial infection in intensive care units in Europe. Results of the EPIC study, JAMA, 1995,274, 639-441
25. *** CDC. Public Health focus: Surveillance prevention and control of nosocomial infections, MMWR, 1992, 41, 783,787
26. *** Education Programme for Infection Control. Basic Concepts and Trending, International Federation of Infection Control, 1995
27. *** Guide to Clinical Preventive Services, second edit, Report of the U.S. Preventive Services Task Force, 1996
28. *** Infection et situation a risque In : Popi, Maladies infectieuses, APPT, 5-e edit, Eds 2M2, Montomorency, 1997, 147-169
29. *** CDC-NNIS System. National Nosocomial Infections Surveillance Report, Am J Infect Control, 1997, 25,477-485
30. *** Resistance to microbial agents, Weekl. Epidemiol Rec, WHO, 1997, 72, 33-337
31. *** Maladies infectieuses. Atitudes pratiques, diagnostiques et thérapeutiques, Hospital Erasme, Belgique, 4-eme edit, 1998
32. *** VIII-es Journées de prévention des infections nosocomiales, Lettre Infect, 1998, XIII,1, 46-80
33. *** CDC.Public Health Service Guidelines for the Management of Health – care worker exposure prophylaxis, MMWR, 1998,47,1-33
34. *** WHO. Global Strategy for Containment of Antimicrobial resistance, Weekl Epidemiol Rec, 2001, 38, 76, 289-300
35. *** Alternatives to established surgical prophylactic practices. Nosocomial infection today. Third International Symposium of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, Venice, 5-8 nov. 2000, J Hosp Infect, 2002,50, suppl A, S1-S

VII. MEDICAMENTE ANTIVIRALE ŞI UTILIZAREA LOR TERAPEUTICĂ

VIRUSTATICELE NATURALE – DIN NOU IN ACTUALITATE

Ursula Stănescu, A. Miron, M. Hancianu
Disciplina de Farmacognozie-Fitoterapie, Facultatea de Farmacie,
Universitatea de Medicina si Farmacie "Gr. T. Popa", Iaşi

Abstract.
The antiviral substances isolated from plants have very different chemical structures and they develop either a direct action by inbition of virus replication at a certain moment or an indirect action by stimulation of the immune response. The most important natural drugs which act by inhibiting the virus adsorption are michellamines, sulphated polysaccharides, polyphenolcarboxilic acids like oligomers of rosmarinic, chlorogenic and cafeic acids (isolated from *Melissae folium* or *Pelargonium reniforme*), tannins, procyanidines or glycyrrhizine (a triterpenic substance isolated from *Liquiritiae radix*). Manose and N-acetyl-glucosamine specific lectins and triterpens like betulinic acid have virustatic effects by inhibiting the merging of the virus with the target cell. Some other natural substances (benzophenantridinic, protoberberinic and isoquinoleinic alkaloids, cumarines, flavonoids and polyphenolics such as esters of galic acid with quinic acid) inhibit the reverse-transcriptase which induces the replication of the retroviruses. Other natural substances (cumarines, lignanes, depsidones) act in the integration phase, while some proteins such as proteins isolated from *Momordica charantia*, *Phytolacca americana*, *Cucurbita pepo*, *Ecballium elaterium* or *Bryonia dioica* affect viral translation by inactivating the ribosomes; hypericines isolated from *Hypericum perforatum* are inbibitors of maturation and "budding" of the human immunodeficiency virus.

În ultimii 30 ani, odată cu elucidarea particularităţilor morfologice şi de replicare virală, chimia de sinteză a înregistrat o serie de succese notabile în

domeniul obținerii unor antivirale eficiente astfel încât, actualmente, la dispoziția medicului și a pacientului se află chimioterapice din seria derivaților nucleozidici, peptidici, aminoadamantanici și izatintiosemicarbazonici.

Din punctul de vedere al mecanismului de acțiune, chimioterapicele virustatice care circulă pe piața de medicamente sunt inhibitori nucleozidici (Kaul, 1995) care intervin în ciclul de replicare prin inhibarea unor enzime virale specifice. Aceste medicamente funcționează ca substrat pentru enzimele virale în cauză mimând, din punct de vedere structural, moleculele asupra cărora acestea acționează la nivel celular.

În cazul **inhibitorilor de peptidază**, medicamentul de sinteză (cu greutate moleculară mică), peptidomimetic, preia rolul substratului peptidic din celula infectată, în timp ce **antimetaboliții** determină apariția unor defecte în replicarea ADN, enzimele de sinteză ale acidului nucleic integrând defectuos anumite componente în lanțul ADN nou format. Din păcate însă, acești inhibitori nucleozidici de sinteză nu sunt integrați selectiv doar în celulele infectate cu virus, ci și în celulele sănătoase, pe care le afectează de asemenea. Chimioterapicul intervine și denaturează astfel nu doar ADN-ul viral rezultat în urma replicării, ci și pe cel propriu, singura diferență (și care, de fapt, justifică utilizarea ca medicament virustatic) fiind de ordin cantitativ; rata de replicare a ADN-ului viral fiind mult mai mare ca cea a ADN-ului celular, cantitatea de chimioterapic prelucrat în sinteza primului va fi mult mai mare decât cea consumată în replicarea celui de al doilea.

Mai nou este grupul asa-numiților **inhibitori de neuramidază** care intervin în faza de eliberare a virusului de pe suprafața celulei infectate. Acest tip de medicamente, utilizate în tratamentul infecțiilor gripale, inhibă o enzimă virală aflată pe suprafața capsidei, neuramidaza, al cărei rol este acela de a scinda resturile de acid sialic de pe suprafața receptorilor de la nivelul membranei celulare și care fixează virusul nou format pe suprafața celulei infectate.

Deoarece, într-o singură celulă infectată din epiteliul tractului respirator se pot forma până la 100.000 de particule virale care sub acțiunea neuramidazei ar propaga infecția în organism, administrarea unui inhibitor al enzimei întrerupe practic ciclul infecțios (Kusnick, 2002).

Dar dacă acestea sunt principalele căi de atac ale virustaticelor de sinteză, poate ca unele substanțe naturale vor putea interveni și în alte momente ținând cont de particularitățile morfologice și metabolice ale virusurilor.

1. Virustatice de origine vegetală

Infecții virale la om au existat dintotdeauna și ele au fost tratate mai mult sau mai puțin eficient cu medicamente tradiționale, de origine vegetală. Din acest motiv, atenția cercetătorilor s-a îndreptat în ultimele două decenii, din nou, asupra lumii vegetale ca posibilă sursă de principii antiviral active.

Despre antiviralele de origine vegetală, atât medicii, cât și pacienții sunt mai puțin informați, dar asta nu înseamnă că unele dintre ele n-ar fi la fel de potente ca cele de sinteză.

Ca şi în cazul chimioterapicelor, pentru introducerea în terapeutică a unui nou medicament de provenienţă vegetală, trebuie parcurse o serie întreagă de etape de cercetare care să justifice, în final, realizarea unei forme farmaceutice moderne în care componentele bioactive să fie standardizate astfel încât, pentru o anume doză, să se obţină rezultate constant reproductibile. Deoarece cercetările privind identificarea unor antivirale naturale eficiente este pe plan mondial abia la început, numărul medicamentelor deja înregistrate este redus.

Exista însă siguranţa ca în următorul deceniu paleta antiviralelor naturale înregistrate să crească substanţial.

Antiviralele vegetale actionează fie **direct** (inhibând adsorbţia, penetrarea în celulă, fuziunea virus-celulă, replicarea, translarea, maturarea sau eliberarea virusurilor din celula gazdă), fie **indirect** prin activarea sistemului imunitar al gazdei (prin stimularea producţiei de interferoni sau a sistemului complement).

Dintre substanţele naturale cele mai promiţătoare fac parte unii alcaloizi izochinoleinici cum ar fi michellamina, cumarine (umckalina), izocumarine (agrimonolid), flavonoide (3-metoxiflavonele din *Alkanna orientalis*), triterpene (glicirizina), taninuri, procianidine (cameliatanin D) , acizi polifenolcarboxilici din seria acidului chinic şi cafeic (din frunzele de melisă şi jales) sau polizaharide sulfatate care acţionează toate ca inhibitori ai adsorbţiei virale.

Fuziunea virus-celulă este inhibată de unii acizi triterpenici (acid betulinic), precum şi de o serie de lectine manoz- şi N-acetilglucozamin-specifice.

Prin **inhibarea revers-transcriptazei** (enzima implicată în replicarea retrovirusurilor) se explică acţiunea virustatică a alcaloizilor berberina şi fagarinona, a esterilor tri- şi tetragaloilchinici, a unor cumarine sau flavone.

O serie de proteine unicatenare cum ar fi cele izolate din rădăcinile de *Bryonia dioica* (mutătoare cu poame roşii), din seminţele de dovleac (*Cucurbita pepo*), fructele de plesnitoare (*Ecballium elaterium*) sau mosmoane (*Momordica charantia*), din seminţele de *Phytolacca americana* (carmaz) **impiedică translarea** prin inactivarea ribozomilor.

Maturarea virală poate fi impiedicată de o serie de saponine, xantone sau cumarine vegetale care acţionează proteolitic sau prin influenţarea glicozilării (castanospermina, hipericina); hipericina blochează şi o altă fază şi anume, **eliberarea fragmentelor virale** rezultate în celula infectată.

Dealtfel, utilizarea în medicina populară şi/sau clasică a unor extracte ce conţin principiile active menţionate se explică tocmai prin acest efect antiviral, dublat frecvent de alte acţiuni farmacologice importante (antiinflamatoare, diuretică, imunostimulatoare, antidiabetică).

Dintre produsele vegetale prescrise ca atare sau sub forma extractelor, în terapia adjuvantă a infecţiilor virale, cele mai cunoscute sunt: *Echinacea purpurea* (pălăria-soarelui), *Thuja occidentalis* (tuia), *Eupatorium perfoliatum* (cânepa-codrului), *Daphne mezereum* (tilichiu), *Viscum album* (vasc) sau *Baptisia tinctoria* (indigo sălbatic).

2. Extracte sau substanțe de origine vegetală cu loc determinant în terapia antivirală

Caracteristic pentru antiviralele vegetale este faptul că ele acționeaza selectiv asupra unui anume virus și numai rareori asupra unui grup de virusuri înrudite.

Astfel, extractul special din frunzele de *Melissa officinalis* (melisa, lămâița, iarba stupilor, roinița) este eficient numai în tratamentul herpesului labial datorat infecției cu VHS-1 (virusul herpesului simplu 1), același agent patogen determinând apariția și a altor infecții herpetice.

În mod analog, glicirizina dezvoltă acțiune antivirală doar față de virusul hepatitei B, în timp ce extractul din *Pelargonium sioides* este activ față de virusul gripei A și B. Această specificitate de acțiune se datorește probabil structurii chimice a principiilor active prin care acestea interferă, la nivel molecular, cu componente celulare sau tisulare, normale sau alterate; expresia acestor interacțiuni dintre molecula-medicament și molecula-țintă o reprezintă efectul farmacologic.

Urmărind, din punct de vedere chimic, apartenența principiilor active antivirale menționate anterior, constatăm că avem de a face cu 3 grupe de substanțe diferite, și anume:

- acizi polifenolcarboxilici și esteri ai acestora, în extractul special de *Melissa officinalis*,
- cumarine, în cazul extractului de *Pelargonium sioides* și
- glicirizina, o diglucuronida a acidului 18-beta-gliciretic.

2.1. Extractul special de *Melissa officinalis* (LOMAHERPAN®)

Afecțiunile herpetice reprezintă un grup de infecții virale inflamatorii ale pielii și ale mucoaselor care se caracterizează prin formarea unor pustule mici, grupate, pline cu un lichid seros. Aceste afecțiuni sunt provocate de o serie de virusuri care, din punct de vedere morfologic, sunt identici, 6 dintre aceștia conducând la apariția unei îmbolnăviri la om.

Virusurile herpesului simplu (VHS) aparțin grupului de virusuri tip ADN, iar cele două tipuri cunoscute VHS-1 și VHS-2 se diferențiază serologic.

Frecvența îmbolnăvirilor cu VHS, incidența crescândă în ultimii ani pe plan mondial, precum și riscul pe care acestea îl reprezintă pentru pacienții supuși unor tratamente cu medicamente imunosupresive, a determinat investigarea cu precădere a patogenezei și manifestărilor clinice și a imunologiei acestor infecții.

Din datele statistice existente în literatură rezultă că 75% din populația prepubertală a globului și 90% din polulația adultă este infectată cu VHS-1, 99% din gingivostomatitele herpetice și herpesurile simple labiale fiind cauzate de acest tip de virus; conform aprecierilor specialiștilor, jumătate din persoanele infectate suferă anual cel puțin o recidivă care afectează pacientul atât fizic, cât și psihic.

După inoculare, care se produce ca urmare a contactului direct al virusului cu mucoasa, începe imediat replicarea sa. Pruritul, durerea și pustulele caracteristice se instalează abia după câteva zile de la debutul replicării locale a virusului. Virusul pătrunde apoi în celula nervoasă de unde se retrage pe cale axonală în ganglion. Această retragere a virusului are loc la aproximativ 8 zile după infectare și, din acest moment, virusul activ, care circulă liber în neuron, nu mai este decelabil, el trecând într-o formă latentă (Wassilew, 1993).

Reactivarea genomului viral este indusă, de regulă, de diverşi factori iritativi pe fondul unei afectări a sistemului imunitar. Se pare că în procesul de reactivare un rol important revine prostaglandinelor care actionează ca mediatori.

Pe cale neuronală, virusul ajunge din nou la periferie unde se înmulţeşte în celulele epiteliale, în măsura în care condiţiile imunologice permit acest lucru. Anticorpii, care sunt prezenţi în cazul oricărei recidive, nu stau în calea răspândirii virusului deoarece acesta se poate transmite de la o celulă epitelială infectată la una sănătoasă fără a părăsi celula infectată. Mecanismelor imunitare celulare, în care din nou sunt implicate prostaglandinele, le revine sarcina combaterii infecţiei periferice recidivate.

Acţiune antivirală s-a dovedit a avea doar extractul apos, nu şi cel hidroalcoolic din frunzele de melisă. În acest scop, astăzi se prepară un extract (extracţie apoasă) care, prin purificare şi concentrare, furnizează extractul special de melisă (1 g extract uscat corespunzând fitocomplexului virustatic activ obţinut din 70 g frunze). Componentele chimice identificate în acest extract sunt acizi polifenolcarboxilici cum ar fi acizii rozmarinic, clorogenic, cafeic, p-cumaric şi ferulic sub forma glicozidată, precum şi polimeri ai acestora.

Mecanismul acţiunii virustatice nu se bazează, ca în cazul virustaticelor de sinteză, pe inhibarea replicării în sine a virusului; mecanismul cheie în acţiunea extractului de melisă este inhibarea adsorbţiei virale şi oprirea răspândirii infecţiei de la o celulă la alta.

Acest mecanism de acţiune explică şi modul de aplicare – topic – a preparatelor cu extract special de melisă (cel mai cunoscut şi eficient: LOMAHERPAN® Crème) şi lipsa dezvoltării rezistenţei de către virus la utilizări repetate, rezistenţa cunoscută pentru antiviralele de sinteză.

Specialiştii consideră că aplicarea locală a unor creme cu extract special din frunze de melisă, în stadiul incipient al recidivei, protejează celulele sănătoase de răspândirea infecţiei virale datorate deschiderii (spargerii) pustulelor urmată de răspândirea lichidului seros, extrem de infecţios.

Extractul special de melisă este standardizat în ceea ce priveşte efectul sau antiviral. Având în vedere eficienţa sa (clinic echivalentă cu cea a ACICLOVIR®) siguranţa şi constanţa acţiunii, lipsa de reacţii adverse, precum şi lipsa riscului dezvoltării unei rezistenţe la tratament repetat, se consideră că extractul special de melisă reprezintă o alternativă la virustaticele de sinteză (Mohrig, 1996).

2.2. Extractul de *Pelargonium sioides* (UMCKALOABO®)

Infecţiile căilor respiratorii superioare sunt, în aproximativ 90% din cazuri, de natura virală, din care cauză terapia primară se adresează tratamentului simptomatic a manifestărilor patologice ce apar la nivelul tractului naso-faringian şi respirator (Kastner, 1999).

Fitoterapia oferă, în acest caz, o multitudine de posibilităţi de intervenţie în patomecanismul infecţiilor respiratorii.

Datorită infecţiei propriu-zise sau a unei imbalanţe în sistemul imunitar, în submucoasă apare, după o fază iniţială care se caracterizează printr-o senzaţie de uscare a acesteia, o hiperemie reactivă şi edem, după care se instalează catarul, deseori asociat cu febră şi stare de atonie generalizată. Epiteliul, iniţial intact, îşi pierde în mod progresiv funcţia de barieră permiţând pătrunderea atât a

microorganismelor patogene şi/sau a virusurilor în organism, cât şi a unor alergene sau substanţe toxice.

Desigur, organismul se va apăra în funcţie de capacitatea de funcţionare a sistemului său imunitar, dar deseori se eliberează în mod necontrolat mediatori pro-inflamatori care agravează procesul inflamator deja existent.

Este ştiut faptul că infecţiile virale respiratorii recidivante ale copiilor reprezintă factorul determinant în apariţia unor alergii ce pot ajunge până la astm bronşic de natură alergică alterând, parţial sau total, calitatea vieţii individului în cauză. Tocmai de aceea ar trebui să se acorde mai multă importanţă infecţiilor "banale" ale tractului respirator care, odată scăpate de sub control, se pot transforma într-o gripă cu implicaţii serioase.

Unul din preparatele de mare eficienţă, recomandat mai ales în pediatrie, este UMCKALOABO®, un extract hidroalcoolic (12% etanol) obţinut din scoarţele recoltate de pe rădăcinile unei muşcate (*Pelargonium sioides* sin. *P. reniforme*) originare din Africa de Sud, denumită în limba zulu "umckaloabo". Extractul conţine, pe lângă umckalina (antiviral, dar şi antimicrobian prin împiedicarea competitivă a fixării virusurilor şi bacteriilor pe membrana celulelor epiteliale ale mucoasei rino-faringiene şi bronşice) o serie de cumarine, fenoli, săruri de calciu şi acid silicic. Pe lângă acţiunea directă, extractul acţionează şi imunostimulator, deci indirect; în plus, prin efectul mucolitic se evita acumularea de mucus la nivelul căilor respiratorii (Berger, 2001).

Preparatul se recomandă în pediatrie şi la adulţi în tratamentul amigdalitelor, bronşitelor, sinuzitelor, rinofaringitelor şi în răceli, pentru prevenirea unor infecţii microbiene sau virale serioase.

2.3. Glicirizina (STRONG NEO – MINOPHAGEN C®, REMEFA S®)

Încă din anii '50 ai secolului al XX-lea, în gastroenterologia clinică din Japonia, (în tratamentul afecţiunilor hepatice cronice inflamatorii) a fost introdusă glicirizina sub forma soluţiei perfuzabile, iar începând din deceniul al nouălea, domeniul de indicaţie s-a extins şi asupra hepatitelor cronice agresive şi a cirozelor hepatice. Astăzi se ştie că această substanţă extrasă din rădăcinile de lemn dulce dezvoltă o acţiune antivirală faţă de virusul hepatitei B prin inhibarea adsorbţiei acestuia pe hepatocit. În plus, stimulează secreţia de interferoni. În tratamentul afecţiunilor menţionate se administrează câte 120 mg glicirizină/zi sub formă de perfuzie; administrarea se face timp de 2-3 luni pentru a asigura un efect hepatoprotector optim, dar datorită aplicării îndelungate, în unele situaţii, s-a semnalat apariţia unor reacţii adverse de tip supradozare de dezoxicorticosteron cum ar fi hipertensiunea, migrena sau edemele, hipokaliemie, tulburări respiratorii.

Acţiunea hepatoprotectoare a glicirizinei se explică prin realizarea:

- unui efect citoprotector, prin ecranarea lipidelor membranare faţă de RLO,
- unei stimulări a secreţiei de interferon,
- unei normalizări a valorilor transaminazelor serice,
- unei reduceri a inflamaţiei hepatice.

Astăzi, în Germania, ca şi în Japonia, glicirizina se asociază cu interferon în tratamentul cirozei hepatice şi a hepatitelor cronice de geneză virală, dar şi a celor induse iatrogen sau ca urmare a unui abuz de alcool.

3. Perspective în profilaxia antivirală

Infecţiile virale au o arie de răspândire extrem de largă datorită mijloacelor de răspândire şi condiţiilor socio-economice existente pe glob şi se presupune că diversitatea virozelor uman-patogene, precum şi ariile lor de răspândire vor creşte în următoarele decenii.

Într-un singur an, spre exemplu, un studiu statistic efectuat pentru Germania a indicat că în 1994 s-au înregistrat aproximativ:

- 1500 infectări noi cu virusul imunodeficienţei umane,
- 5000 cazuri cu hepatită A,
- 5000 infectări cu hepatită B,
- 3000 infectări cu hepatită C,
- 2000 cazuri de meningită virală,
- 1500 cazuri de meningoencefalită, la care s-au adăugat viroze respiratorii, diferite îmbolnăviri herpetice şi peste 800 pacienţi seropozitivi au dezvoltat tabloul clinic tipic pentru SIDA (Brede, 1995).

Dacă în baza acestor date se face un calcul pentru a stabili care este efortul financiar la care o ţară trebuie să facă faţă pentru a susţine o astfel de situaţie (costul spitalizării, concediile medicale, incapacitatea ulterioară de muncă a unor pacienţi, medicaţia care uneori trebuie să fie asigurată pe toată perioada vieţii) se ajunge la sume incredibile. La scară mondială rezultatul este aproape apocaliptic.

Ca să ne dăm seama de implicaţiile profunde pe care le au aceste infecţii virale, să menţionăm că hepatita B în formă acută reprezintă o afecţiune gravă care, în cazuri extreme, este letală. O problemă mai mare o reprezintă însă infecţia cronică. În lume, aproximativ 350 milioane de oameni sunt infectaţi cronic cu virusul hepatitei B. Urmările târzii ale unei astfel de viroze le reprezintă ciroza şi cancerul hepatic. Pe termen lung, terapia infecţiei cronice este încununată de succes doar în 40% din cazuri astfel încât, ca singură rezolvare logică şi economică, se impune prevenţia prin vaccinare profilactică.

Desigur ca vaccinarea antivirală nu este o achiziţie recentă: să ne aducem aminte că toţi cei care suntem astăzi maturi am trecut printr-o vaccinare antipolio mai mult sau mai puţin neplacută şi de atunci tehnologiile de obţinere au devenit mai sofisticate, iar calitatea şi siguranţa vaccinurilor au crescut considerabil. Nu înseamnă însă că preţul acestora a scăzut în aceeaşi măsură şi nici forma de administrare nu a devenit mai comodă, eventual chiar plăcută.

Pe acest fundal au apărut vaccinurile antivirale de ultima generaţie care conţin, de fapt, nu virusul în sine, ci doar proteina învelişului viral, capabilă ea însăşi să declanşeze, la administrare, producţia de anticorpi. Un astfel de vaccin antihepatită B se obţine astăzi din culturi celulare de *Saccharomyces* cu ajutorul tehnologiilor genetice. Vaccinul este eficient şi bine tolerat de organism, dar nu este ieftin.

În căutarea unor alternative mai ieftine, dar şi cu o cale de administrare mai "prietenoasă" pentru pacient, cercetătorii au creat plante transgene capabile să sintetizeze astfel de proteine capsulare, anticorp-inductoare; s-au obţinut astfel bob,

cartofi, roşii şi salată verde care produc proteina capsulară a virusului hepatitei B. Dar asta încă nu înseamnă că în viitor vaccinarea profilactică antihepatita B se va face ingerând o porţie de cartofi prăjiţi sau bob (transgenici), eventual completată cu o salată de roşii şi lăptuci (tot transgenice). Prin prelucrarea la cald (bob, cartofi) proteina capsulară este denaturată, iar în cazul roşiilor şi mai ales a salatei verzi, aceasta poate fi alterată prin transport şi depozitare defectuoase fiind, în plus, grevate de timpul scurt de păstrare în stare nealterată.

Cu atât mai interesantă este deci comunicarea pe care a făcut-o conducerea Universităţii Justus von Liebig din Gießen în cursul anului 2002 (conferinţa de presă a Universităţii Gießen din 07.05.2002) prin care se anunţă obţinerea unei varietăţi de morcov transgenic, capabil a produce proteina capsulară a virusului hepatitei B, morcov uşor de produs, de transportat şi depozitat şi care urma a fi introdus în testare clinică. Rămâne, desigur, de văzut dacă vaccinul "morcov" este eficient la ingerare şi în ce măsură este acceptat de populaţie care, în general, evită produsele vegetale "manipulate" genetic.

În mod analog, încă din 1999, s-au obţinut banane modificate genetic producătoare de proteină capsulară de tip virus hepatita B, dar care, din păcate, s-a dovedit inactivă la ingerare; cercetările continuă însă pentru rezolvarea acestei probleme, bananele fiind un aliment ieftin în majoritatea ţărilor subdezvoltate (Verpoorte, 2000). Însă şi mai promiţătoare şi revoluţionară totodată este producerea de anticorpi antivirali în plante (Conrad şi colab., 1996; Ma şi colab., 1996); aceste cercetări, aflate deja în faza de finalizare, deschid o cale nouă în profilaxia antivirală care va deveni mai economică în deceniile următoare contribuind la menţinerea stării de sănătate a populaţiei.

Bibliografie (selectivă)

1. BERGER R., PTA-heute, 2001, 11, 44-46.
2. BREDE M. D., Munch. Med. Wochenschr., 1995, 137 (4), 16-18.
3. CONRAD U., FIEDLER U., Plant Mol. Biol., 1994, 26, 1023-1030.
4. KASTNER U., Foliaca, 1999, 3 (3), 11-13.
5. KAUL R., Deutsche Apotheker Zeitung, 1995, 135 (23), 19-28.
6. KUSNICK C., Deutsche Apotheker Zeitung, 2002, 142 (41), 4956-4959.
7. MA J. K. C., HEIN M. B., Antibody production and engineering in plants - Ann. N. Y. Acad. Sci., 1996, 792, 72-81.
8. MOHRIG A., Deutsche Apotheker Zeitung, 1996, 136 (50), 109-114.
9. VERPOORTE R., J. Pharm. Pharmacol., 2000, 52, 253-262.
10. WASSILEW S. W., Deutsche Apotheker Zeitung, 1993, 133 (21), 17-22.

ROLUL LAMIVUDINEI ÎN TRATAMENTUL ACTUAL AL HEPATITEI CRONICE VIRALE B. INDICAȚII ŞI CONTROVERSE

Laura Ciobanu
U.M.F. „Gr.T. Popa" Iaşi, Clinica a VI-a Medicală, Spitalul Clinic Recuperare

Abstract
It is estimated that up to 350 million people are infected with the hepatitis B virus worldwide. Globally, it is an important source of morbidity and mortality through redoubtable complications like cirrhosis and hepatocellular carcinoma. The natural history of hepatitis B infection is determined by multiple factors: mode of transmission, immune status, age, replication status of the hepatitis B virus, geographic and genetic factors. The sum of these factors influences the prognosis of this infectious disease and the treatment decisions.
The best treatment of hepatitis B is prevention. But the patients with active (replicative) chronic hepatitis B must benefit from antiviral therapy, the current therapeutic choices including interferon, nucleoside analogs, hepatitis B immuneglobulin (HBIg), or enter clinical research trials.
The advent of nucleoside analogs has the potential to revolutionize the treatment and management of chronic hepatitis B. Lamivudine has been evaluated in several clinic trials and its efficacy and safety have been well defined. The purpose of this study is to evaluate some controversies and clinical interpretable conditions generated by the long-term therapy (over 2 years) with lamivudine, and the well-defined indications of this medicine-hope in the treatment of chronic infection with hepatitic B virus.

A. Hepatita cronică virală B – definiție şi epidemiologie

- infecția cronică cu VHB este marcată de prezența AgHBs în ser mai mult de 6 luni; această stare antrenează un risc crescut de apariție a unor complicații precum CH şi CHC (la 25% dintre copiii infectați şi la 15% dintre adulți)
- în prezent în lume sunt peste 350 milioane de persoane infectate (Balogun şi colab., 2001)
- în SUA şi în țările vestice incidența este în prezent mai mare la adulții tineri, cu transmitere în principal pe cale sexuală, dar şi prin produse de

sînge necontrolate şi droguri cu administrare intravenoasă (Balogun şi colab., 2001; Grigorescu şi colab., 2002)

- în ultimii 10 ani incidenţa în aceste ţări a scăzut cu peste 50% datorită îmbunătăţirii screening-ului donatorilor de sânge, a strategiilor de imunizare şi schimbărilor pozitive în practicile sexuale; a contribuit mult imunizarea infantilă de rutină introdusă după 1991 (Balogun şi colab., 2001; Douglas şi colab., 2002)
- în Asia, unde HCB este endemică şi cauză majoră de boală hepatică, modul principal de transmitere este vertical (mamă-făt); se estimează că 50% dintre bărbaţii asiatici cu HCB decedează prin CH sau CHC (Balogun şi colab., 2001).
- istoria naturală a infecţiei VHB este determinată de multipli factori: mod de transmitere, status imun, vârstă, status replicativ al VHB, factori genetici şi geografici. Suma totală a acestor factori influenţează tabloul clinic şi biologic, prognosticul afecţiunii şi decizia asupra tratamentului (Douglas şi colab., 2001).

B. Clasificarea HCB

1. Hepatita cronică B „non-replicativă"
   - AgHBs+
   - ADN-VHB ≤ 105 copii/ml (rată joasă a replicării virale)
   - AgHBe-
   - valori ALT normale ≥ 6 luni
   - PBH: scor de activitate necroinflamatoare ≤ 3
   - prognostic bun
   - pacienţii nu sunt candidaţi la terapia antivirală
   - de supravegheat pentru o posibilă „reactivare" a afecţiunii hepatice
2. Hepatita cronică B „replicativă" (activă)
   - AgHBs+
   - ADN-VHB ≥ 105 copii/ml (rată înaltă a replicării virale)
   - AgHBe+
   - creşteri persistente sau intermitente ale ALT ≥ 6 luni
   - PBH: scor de activitate necroinflamatoare ≥ 4
   - prognostic nefavorabil
   - pacienţi candidaţi la terapia antivirală
   - risc crescut de a dezvolta CH şi/sau CHC
3. Hepatita cronică cu VHB mutant pre-C
   - AgHBs+
   - ADN-VHB ≥ 105 copii/ml (rată înaltă a replicării virale)
   - AgHBe-
   - anti HBe+

- rată rapidă de multiplicare, agresivitate ridicată, rezistență la tratament
- controverse terapeutice legate de inițierea tratamentului și de durata acestuia (Douglas și colab., 2002; Grigorescu și colab., 2002)

C. Antigenul HBe

- genomul VHB are patru gene: pol, env, pre-core și X, care codifică AND-polimeraza, proteina de suprafață (envelope/AgHBs), proteina pre-core și proteina X (funcția acesteia nu este clară, dar ar fi implicată în activarea genelor celulelor gazdă și în dezvoltarea CHC) (Worman, 2002)
- gena pre-core codifică sinteza a două secvențe proteice înrudite, dar distincte funcțional: proteina centrală/core (AgHBc) și proteina „e" hepatitică (AgHBe) (Worman, 2002)
- proteina HBe non-structurală apare devreme în ser („e" de la „early") în infecțiile acute cu VHB, fiind un marker al replicării virale active; funcția acestui peptid nu este cunoscută, dar se pare că ar avea influență în supresia răspunsului imun la infecția cu VHB [7]
- supraproducția de AgHBe ar reprezenta un mecanism prin care virusul blochează răspunsul imun al gazdei; limfocitele T prevăzute cu receptori pentru AgHBc ar reacționa încrucișat cu AgHBe, explicând rolul acestei proteine în producerea toleranței imunologice (Buligescu, 1999)
- prezența AgHBe în infecțiile cronice este indicatoare pentru replicarea activă a VHB, ceea ce face persoana mai infecțioasă și cu un risc mai mare de progresie a bolii hepatice
- la reproducerea VHB, mai ales sub presiunea replicării masive, se pot face greșeli în copierea ADN-ului viral și pot rezulta diferite tulpini, unele dintre ele mutante, ca de exemplu mutația pre-core (a materialului proteic codat de gena pre-core, cu absența secreției proteinei „e") [7]
- neta predominanță a formelor HCB AgHBe-/anti HBe+ (90% din cazuri, mai ales în bazinul mediteranean, dar și în România) ar sugera infecția cu virus B mutant pre-C, ridicând probleme de alegere a tratamentului de durată și de urmărire a răspunsului la tratament, ca și de stabilire a momentului opririi acestuia (Grigorescu și colab., 2002)
- în aceste situații în care replicarea virală se face fără producerea de AgHBe, infecția cu tulpinile mutante este mai agresivă decât cea cu tulpini de virus sălbatic (wild-virus) producătoare de AgHBe (Worman, 2002)
- din punct de vedere practic dificultatea o constituie realizarea diferențierii formelor HCB „non-replicative" (AgHBe-, ADN-VHB $\leq$ 105 copii/ml) care nu necesită terapie antivirală, de HCB cu tulpini VHB mutante pre-C (AgHBe-, ADN-VHB $\geq$ 105 copii/ml) care impun un tratament energic și susținut. Pentru realizarea diferenței se impune titrarea ADN-VHB în ser, dificultate tehnică ce nu a fost încă depășită în practica curentă. De aici și

eşecurile terapeutice, evoluţia nefavorabilă a unor cazuri şi mal-interpretarea răspunsului la terapiile antivirale actuale.

D. Tratamentul HCB

1. Obiectivele tratamentului

- supresia susţinută a replicării virale (schimbarea formei de boală de la replicativă la non-replicativă) sau eradicarea virală; eliminarea infecţiozităţii şi a transmiterii VHB
- oprirea progresiei bolii evaluată clinic şi biochimic (normalizarea ALT)
- ameliorarea şi reversarea procesului inflamator hepatic şi a fibrozei
- ameliorarea prognosticului pe termen lung (reducerea ratei de progresie spre CH, a riscului de CHC, ameliorarea supravieţuirii şi a calităţii vieţii, reducerea pe termen lung a costurilor tratamentului medical) (Douglas şi colab., 2001; Grigorescu şi colab., 2002)

2. Prevenirea infecţiei cu VHB

Este cel mai bun tratament în boala hepatică cu virus B.

- precauţii universale faţă de sânge şi alte produse biologice; măsuri active de educaţie sexuală
- prevenirea transmiterii perinatale prin screening prenatal universal sau vaccinare universală la naştere (lunile 0, 1 şi 6 sau 0, 1, 2 şi 10)
- *în absenţa vaccinării la naştere*:
  - ⇒ vaccinarea de rutină a copiilor mici, sau
  - ⇒ vaccinarea copiilor cu risc mare, la orice vârstă, sau
  - ⇒ vaccinarea tuturor copiilor de 11-12 ani, sau
  - ⇒ vaccinarea adolescenţilor şi adulţilor din grupurile cu risc mare (lucrători din domeniul sanitar, hemodializaţi) (Douglas şi colab., 2001, 2002)[8]

Vaccinuri utilizate:

Engerix B (SmithKline Beecham, Philadelphia)
Recombivax HB (Merck & Co., West Point)
Twinrix (SmithKline Beecham Biologicals); oferă protecţie dual ă (VHA, VHB)

- imunoprofilaxia postexpunere - HBIg (hepatitis B immunoglobuline) reprezintă anti HBs care se administrează intramuscular persoanelor nevaccinate care au fost expuse la virus prin contact sexual, produse contaminate (în primele 3 zile după expunere), la persoanele apropiate unui pacient cu hepatită acută cu VHB, precum şi la nou-născuţii din mame infectate (în prima oră post-partum). Administrarea are o importanţă crucială şi o eficienţă foarte bună pe termen lung. Este utilă şi post-transplant hepatic (Douglas şi colab., 2002)(Douglas şi colab., 2001)[8].

3. Linii de tratament în HCB

a.Tratamentul medicamentos

- antiviral
- modulator al răspunsului imun
- mixt (antiviral + imun)
- terapii recente aflate în stadii experimentale sau de laborator: strategii bazate pe acizi nucleici (utilizarea constructorilor anti-sens ARN şi ADN), tehnici de imunizare ce folosesc eliberarea intracelulară de ADN pentru a stimula un răspuns imun celular puternic, în special al limfocitelor T citotoxice (Douglas şi colab., 2002)

b. Dieta hepatoprotectoare

c.Terapii alternative - se adresează bolii hepatice şi nu infecţiei virale (rădăcină de păpădie, de lemn dulce/liquiriţia, de armurariu în preparatul silimarină, seleniu, vitamina E).

d.Transplantul hepatic - poate fi necesar în cazurile de boală hepatică gravă, dar este o procedură costisitoare, grevată de riscul reinfecţiei cu VHB. Este utilă imunoprofilaxia post-transplant, iar în cazul HCB post-transplant se indică terapie cu lamivudină şi nu cu interferon (Douglas şi colab., 2001, 2002)[9].

4. Tratamentul medicamentos al HCB

a. Terapii antivirale

- Acyclovir (Zovirax, Glaxo Wellcome)
- *Adefovir Dipivoxil* (GS 840 - Gilead Sciences Inc.)
- Adenine Arabinoside (ARA-AMP)
- *Famciclovir* (Famvir - SmithKline Beecham)
- Ganciclovir (Ganciclovir IV - Roche-Syntex)
- *Lamivudine* (3TC, Epivir, Zeffix - Glaxo Wellcome PLC)
- Lobucavir (Bristol-Myers Squibb)
- Entecavir
- N-Acetyl-Cysteine

b. Modulatori ai răspunsului imun

- Hepagene - Medeva
- *Interferon Alpha*
- Thymosin Alpha (Zadaxin - SciClone Pharmaceuticals)

c. Tratamente mixte

- Interferon Alpha + Famciclovir
- Thymosin Alpha + Famciclovir
- Thymosin Alpha + Lamivudine

Tratamentul cel mai indicat pentru HCB rămâne încă neprecizat, dar se caracterizează printr-o anumită dinamică. În prezent cele mai folosite terapii vizează interferonul alfa-2b şi lamivudina; la acestea se adaugă şi celelalte medicamente specificate italizat (Douglas şi colab., 2001, 2002)[9].

5. Aprecierea răspunsului la tratamentul antiviral în HCB

- răspunsul biochimic - normalizarea transaminazelor serice

- răspunsul virusologic - seroconversia în sistemul HBe la pacienţii AgHBe+ la iniţierea tratamentului şi ideal scăderea ADN-VHB sub 105 copii/ml sau nedecelabil; standardul de aur îl reprezintă dispariţia AgHBs seric
- răspunsul histologic - scăderea scorului ANI cu ≥ 2 puncte şi reducerea progresiei sau chiar regresia fibrozei (Douglas şi colab., 2001, 2002; Grigorescu şi colab., 2002)

6. Efectele terapeutice ale interferonilor
   - (INF alfa-2a, Roferon - Hoffmann La Roche; INF alfa-2b, Intron A - Schering-Plough)
   - efecte antivirale, imunomodulatoare şi antiproliferative
   - opresc replicarea virală cu dispariţia AgHBs, AgHBe şi reducerea semnificativă/nedecelabilitatea ADN-VHB; favorizează apariţia anti HBe, anti HBs
   - normalizează nivelele transaminazelor serice
   - utili în eradicarea statusului de purtător la pacienţii AgHBe+ (infecţie replicativă persistentă)
   - efectele se obţin în 3-6 luni de tratament şi se urmăresc încă 6-12 luni după oprirea acestuia; răspunsul este susţinut la 60-70% dintre pacienţi
   - sunt necesare studii de urmărire a reducerii riscului de dezvoltare a CH şi a CHC
   - sunt asociaţi cu efecte adverse semnificative (Douglas şi colab., 2001, 2002; Grigorescu şi colab., 2002; Buligescu, 1999)
7. Efectele antivirale ale lamivudinei
   - analog nucleozidic (de citoziladenosină) care inhibă activitatea ADN-polimerazei (revers-transcriptaza), fiind astfel un puternic inhibitor al replicării virale; opreşte progresia afectării hepatocelulare şi determină regresia fibrozei, în special a celei de tip bridging necrosis (proces dinamic şi reversibil) (Douglas şi colab., 2001, 2002)[10]
   - eficienţă antivirală înaltă la majoritatea pacienţilor trataţi de primă intenţie
   - numeroase studii placebo controlate au demonstrat că lamivudina favorizează supresia replicării ADN-VHB (34-57% dintre pacienţi), normalizează nivelele ALT (40-72%), induce seroconversia AgHBe (38-52%), determină îmbunătăţire histologică şi reduce progresia fibrozei (3-17%) şi a cirozei [10].
8. Avantajele lamivudinei
   - administrare orală (obişnuit 1 tb. de 100 mg/zi), biodisponibilitate bună
   - toxicitate redusă
   - lipsa contraindicaţiilor majore (sensibilitatea la constituenţi, adaptarea dozei în funcţie de clearance-ul de creatinină în insuficienţa renală avansată)
   - toleranţă bună, cu efecte secundare comparabile cu placebo

- condiție clinică stabilă a tuturor pacienților pe durata tratamentului
- cost acceptabil comparativ cu interferonul (aproximativ 100 USD/lună) (Douglas şi colab., 2001, 2002; Grigorescu şi colab., 2002)[10]

Medicament-speranță în tratamentul hepatitei cronice cu virus B, aprobat de către FDA în decembrie 1998 (Epivir HBV).

9. Limitele terapiei cu lamivudină
   - pot apărea creşteri auto-limitate ale ALT post-tratament; 25% dintre pacienții tratați au avut creşteri ale nivelelor ALT de 3 ori față de valoarea de bază comparativ cu placebo (8%)
   - la pacienții la care nu s-a obținut seroconversia în sistemul HBe în timpul tratamentului, oprirea lamivudinei duce la o reapariție a replicării VHB, cu reîntoarcerea ADN-VHB şi a ALT la valorile din pretratament în decursul unei perioade de 2-6 luni. În aceste situații de viremie recurentă, pentru a stopa evoluția bolii şi a realiza recuperarea morfologică şi funcțională, se realizează în prezent trialuri terapeutice largi, cu prelungirea tratamentului la 4 ani sau indefinit. Rezultatele la 4 ani sunt disponibile şi încurajatoare, iar studiile pe termen „indefinit" sunt în desfăşurare.
   - sub tratamentul cu lamivudină se pot produce mutații la nivelul ADN-polimerazei, în principal la nivelul motivului YMDD, rezultând tulpini mutante YMDD de VHB, cu o capacitate de replicare mai mică (datorită scăderii activității enzimatice a revers- transcriptazei), dar şi cu reducerea sensibilității la tratament. Aceste tulpini sunt rezistente la lamivudină şi non-responsive la interferon (Douglas şi colab., 2001, 2002)[10].
10. Mutația YMDD a VHB sub tratamentul cu lamivudină
    - primele mutații asociate cu rezistența la lamivudină au fost localizate în motivul YMDD, care este foarte bine conservat la toate revers-transcriptazele şi care reprezintă componentul major al situsului catalitic din domeniul C al enzimei (Buligescu, 1999)
    - mutația YMDD a virusului B decelată cu PCR (polymerase chain reaction) poate interesa şi tulpinile sălbatice şi pe cele mutante pre-C ale VHB;
    - incidența mutației YMDD creşte cu durata tratamentului cu lamivudină, fiind de 20% după un an, de 53 % după 3 ani, de 70% după 4 ani şi poate fi şi mai înaltă la pacienții imunocompromişi
    - varianta YMDD a VHB pare să fie mai puțin replicativă *in vivo* şi în 53% din cazuri revine la tipul sălbatic de virus la aprox. 4 luni de la oprirea tratamentului cu lamivudină; capacitatea de replicare a acestor mutanți este influențată de depresia imunologică, de turn-over-ul hepatocitar, de diverşi factori celulari, de citokine
    - studii recente au arătat că apariția variantei YMDD nu se asociază cu progresia bolii hepatice şi că majoritatea pacienților beneficiază de continuarea terapiei cu lamivudină

- în absența posibilității practice de determinare a mutațiilor YMDD și bazat pe experiența internațională se consideră continuarea terapiei cu lamivudină ca având un efect pozitiv asupra markerilor serici biochimici și virali, putând determina chiar seroconversia AgHBe (Douglas și colab., 2001, 2002)[10].

11. Indicațiile tratamentului cu lamivudină

Lamivudina are indicații largi în HCB compensată și decompensată (hepatită cronică documentată asupra replicării virale și cu evidențe histologice asupra inflamației hepatice active și/sau fibrozei):

- hepatita virală B replicativă, AgHBe+
- hepatita virală B AgHBe-/anti HBe+ (pacienți cu mutații pre-C, care au o rată mai mică de răspuns la interferon comparativ cu infecția cu virus sălbatic)
- pacienții care nu au răspuns la tratamentul cu interferon sau care au recăzut după tratamentul cu interferon
- prevenirea reinfecției ficatului transplantat și hepatita B recurentă post-transplant hepatic
- purtători ai VHB aflați sub tratament citostatic sau imunosupresiv, pentru prevenirea reactivării infecției virale B (Douglas și colab., 2001, 2002; Grigorescu și colab., 2002)[10]

12. Precizări asupra indicațiilor tratamentului cu lamivudină

- pentru pacienții cu HCB cu valori ale ALT de peste 5 ori valoarea normală, indicația de elecție este lamivudina, având în vedere efectul puternic și rapid supresiv viral
- pentru pacienții cu valori ale ALT crescute de 2-5 ori peste valoarea normală, opțiunea pentru interferon sau lamivudină se va face individualizat
- oprirea tratamentului în infecția cu VHB sălbatic se indică la apariția seroconversiei AgHBe și ideal la dispariția ADN-VHB documentată prin două determinări efectuate la interval de 3 (chiar 6) luni
- nu există încă un acord legat de tehnica care ar trebui folosită în determinarea nivelelor serice ale ADN-VHB (Douglas și colab., 2001, 2002; Grigorescu și colab., 2002)[10]

13. Durata optimă a tratamentului cu lamivudină

- HCB - AgHBe+

  Tratamentul standard este de 2 ani, dar el se continuă până la seroconversia AgHBe (cu apariția în ser a anti HBe) și/sau dispariția ADN-VHB, sau la obținerea standardului de aur, dispariția AgHBs. Se va lua în seamă posibilitatea opririi tratamentului în caz de pierdere a eficacității indicată de o reîntoarcere persistentă a ALT seric și ADN-VHB la valorile din pretratament, deteriorare histologică hepatică sau alte semne de hepatită.

- HCB - AgHBe- (cu virus mutant pre-C)
  Durata optimă a tratamentului nu este cunoscută. Oprirea lui se va considera după seroconversia AgHBs sau în caz de pierdere a eficacității, ca mai sus.
- HCB cu varianta YMDD a VHB
  La acești pacienți tratamentul se va opri după seroconversia AgHBe și dispariția ADN-VHB la două determinări efectuate la cel puțin 3 luni distanță, sau dacă există dovezi de pierdere a eficacității, ca mai sus.
- HCB decompensată
  Nu se recomandă oprirea tratamentului; sunt în desfășurare studii cu tratament „fără oprire/indefinit"
- HCB recurentă
  După oprirea lamivudinei pacienții trebuie urmăriți periodic (ALT și bilirubina serică la 4 luni) pentru a evidenția o hepatită recurentă. Pentru pacienții care dezvoltă hepatită cronică recurentă post-tratament sunt date insuficiente asupra beneficiului reintroducerii tratamentului cu lamivudină (Douglas și colab., 2001, 2002)[10].

Bibliografie

1. BALOGUN K., GUNGADISSON U., Hepatita B; motivațiile screening-ului prenatal, Medical Update, 2001, vol. III, 3(35), 150
2. BULIGESCU L., Tratat de hepatogastroenterologie, vol. 2, Editura Medicală Amaltea, București 1999
3. DOUGLAS D.D., POST J.D., Hepatitis B: Overview and Treatment Options, preprint 2002
4. DOUGLAS D.D., POST J.D., Hepatitis B: An assessment of curent and future treatment options, Formulary 2001, 36, 708-724
5. GRIGORESCU M., ACALOVSCHI M. și colab., Tratamentul hepatitelor cronice II. Conferință de consens, Viața Medicală, 2002, 30, 3
6. WORMAN J.H., Hepatitis B, http://cpmcnet.columbia.edu/dept/gi/hepB.html
7. *** The Hepatitis B Virus Page – HBV core, http://www.globalserve.net/~harlequin/HBV/hbvcore.htm
8. *** The Hepatitis B Virus Page – Prevention, http://www.globalserve.net/~harlequin/HBV/prevent.htm
9. *** The Hepatitis B Virus Page – Treatment, http://www.globalserve.net/~harlequin/HBV/treatment.htm
10. *** Zefix GSK (Glaxo SmithKline)

LAMIVUDINA ŞI α-INTERFERONUL ÎN TRATAMENTUL UNEI FORME SEVERE DE HEPATITĂ ACUTĂ CU VIRUS B

Carmen Corcaci, Alla Vâţă, Roxana Scurtu,
Cristina Petrovici, V. Luca
Universitatea de Medicină şi Farmacie „Gr. T. Popa" – Iaşi
Clinica de Boli infecţioase

Objective: in order to enhance the viral clearance in a severe case of hepatitis B we used a combined antiviral therapy: Lamivudine and α-IFN
Material and methods: the case of a 18 years old patient, who was hospitalized in the Infectious Diseases Clinic – Iaşi, in June 2002. The point of entry was a tattoo of the right arm, 30 days before the onset of the disease. The diagnosis was based on the clinical, biochemical (bilirubinemia – 75 mg‰, ALAT – 550 UI) and serological (anti-HBc antibodies and AgHBs positive) data. The evolution under standard therapy (rest, diet, vitamins, hepatic protection) was unsatisfactory, with the aggravation of the icteric syndrome and a constant citolytic syndrome. At this point we used the combination of Lamivudine (Zeffix) 100 mg/24h + αIFN 3 milUI X 3/week for the duration of 8 weeks.
Results: the improvement in both clinical and biochemical condition of the patient was obvious. After 3 weeks of treatment the serum bilirubinemia folded 4,72 times and the ALAT levels halved. At the end of the treatment (8 weeks) none of the signs or symptoms were present, the patient became AgHBs negative, AgHBe negative and anti-HBe positive.
Conclusions: the combined antiviral therapy was useful (with the clearance of the HBs antigen) in a severe case of acute hepatitis B

Ne-am propus să vă prezentăm cazul bolnavului S.C., de 18 ani, din Iaşi, elev la Liceul Sportiv, fără antecedente heredo-colaterale deosebite, internat în Clinica de Boli infecţioase – Iaşi în perioada 23.06 – 1.08.2002.

Din antecedentele personale reţinem lipsa Hepatitei acute epidemice (cu virus A) şi efectuarea (împreună cu alţi 3 colegi) a unui tatuaj la nivelul braţului drept, în condiţii de igienă îndoielnice, în urmă cu 30 de zile.

Debutul suferinţei a fost insidios, cu 4 zile anterior internării, prin instalarea unei astenii fizice şi psihice importante, somnolenţă diurnă, inapetenţă, greţuri şi vărsături abdominale. După aproximativ 24 de ore pacientul remarcă

apariţia urinilor hipercrome, a unor dureri persistente la nivel epigastric şi al hipocondrului drept. Instalarea treptată a icterului scleral şi apoi tegumentar determină adresarea la medic.

La internare, starea generală era relativ bună, pacientul era afebril, icterul sclerotegumentar fiind evident, nepruriginos.

La nivelul braţului drept am remarcat tatuajul, fără aspecte inflamatorii, cu dimensiuni de 10/10 cm, în culori vii, reprezentînd un simbol asiatic.

Examenul fizic pune în evidenţă un abdomen suplu, depresibil, mobil cu respiraţia uşor sensibil în epigastru şi hipocondrul drept. Ficatul este global mărit cu marginea inferioară la 3 cm sub rebord, pe linia medioclaviculară, cu consistenţă elastică şi marginea rotunjită. Splina este în limite normale.

Lojele renale sunt nedureroase, urina este hipercromă, în cantitate normală.

Din punct de vedere al sistemului nervos se remarcă o uşoară lentoare în exprimare şi o diminuare a atenţiei.

Datele clinice şi epidemiologice orientează diagnosticul spre o hepatită acută virală, fără a putea preciza etiologia acesteia.

Primele măsuri terapeutice au vizat izolarea bolnavului, impunerea repausului la pat, a unui regim igieno dietetic, administrarea de hepatoprotectoare (Hepaton), vitamine (Eurovita, vitamina C_{200}) şi simptomatice (combaterea senzaţiei de greaţă şi a durerilor abdominale).

Primele date paraclinice au arătat o uşoară leucopenie (GA – 5700/mm^3, PMN–70%, L–21%, M-7%), un VSH în limite normale. ALAT 550 UI şi bilirubina totală de 72 mg‰ confirmă suferinţa hepatocitară. Se remarcă prezenţa bilirubinei şi urobilinogenului în cantităţi crescute în urină. Se recoltează probe serologice pentru clarificarea etilogiei.

Ecografia abdominală evidenţiază un ficat moderat mărit, hiperecogen difuz, o veziculă biliară dilatată, fără calculi, o venă portă cu diametru de 17,5 mm şi o splină uşor mărită (163 mm)

În următoarele zile, evoluţia pacientului nu este favorabilă, cu intensificarea icterului sclerotegumentar, persistenţa durerilor în etajul abdominal superior şi a simptomelor nervoase, apariţia unor sîngerări discrete la periajul dinţilor.

La 7 zile de la internare se confirmă diagnosticul de Hepatită acută cu virus B (IgM – VHA negativi, IgM-HBc pozitiv, AgHBs pozitiv).

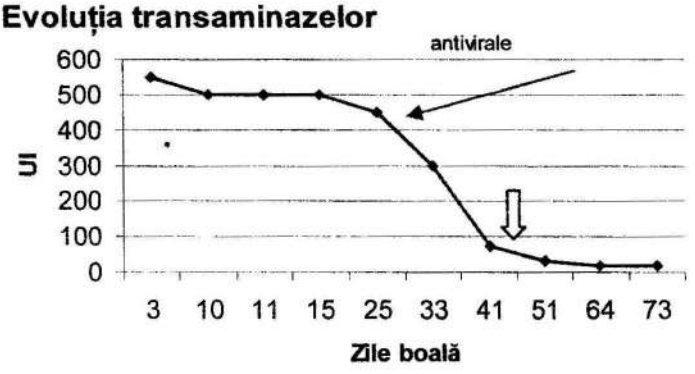
Reevaluarea paraclinică a pacientului relevă mentinerea citolizei hepatocitare (ALAT – 500 UI), creşterea bilirubinei serice (175 mg‰), un timp Quick de 40% cu un număr de trombocite normal, scăderea albuminei serice (33g/l) cu creşterea γ-globulinelor (23g/l), o uşoară hiperglicemie (147 mg%), acelaşi aspect al sumarului de urină.

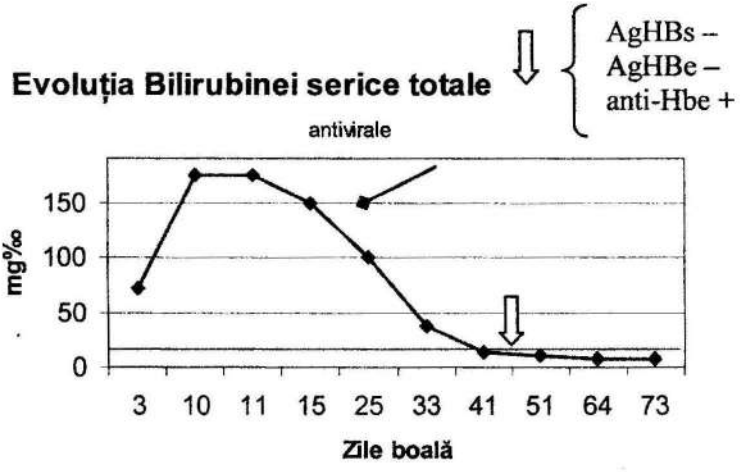
În această situaţie s-a recurs, pe lîngă tratamentul clasic şi perfuzii cu Glucoză hipertonă la introducerea **Lamivudinei (100 mg/zi) şi a α-IFN (3 milioane UI X 3/săptămînă).**

Ameliorarea clinică sub terapia antivirală a fost rapidă şi evidentă, cu

dispariţia sindromului hemoragipar, dispariţia asteniei marcate, revenirea apetitului şi ameliorarea treptată a icterului.

Din punct de vedere biochimic, se înregistrează începutul declinului bilirubinei serice după 2 zile de terapie, transaminazele menţinîdu-se la acelaşi nivel pentru încă 10 zile. Timpul de protrombină se menţine scăzut încă 14 zile, cu revenirea treptată la normal.





Normalizarea bilirubinei şi a transaminazelor s-a obţinut în a 51-a zi de boală şi a 40-a de tratament antiviral, marcînd vindecarea clinică a bolii.

În a 61 zi de boală (50-a zi de tratament antiviral) reevaluarea serologică a pacientului a evidenţiat dispariţia AgHBs, a AgHBe şi apariţia anticorpilor anti-Hbe, confirmînd încetarea replicării virale şi o posibilă vindecare virusologică a pacientului.

Tratamentul antiviral a fost bine suportat, fără a înregistra efecte secundare. S-a remarcat o uşoară agravare a leucopeniei iniţiale (3400/mm^3) cu o discretă neutropenie (43%), dar care a retrocedat spontan într-o săptămînă.

Consideraţii generale:

Noile orientări terapeutice în hepatita virală B cuprind mai multe scheme de terapie, una dintre ele fiind asocierea lamivudină şi interferon.

Lamivudina, utilizată iniţial în terapia infecţiei HIV şi-a dovedit eficacitatea în tratamentul hepatitei acute virale B. La aceasta se adaugă complianţa aproape absolută a pacienţilor, întrucît administrarea preparatului este orală, „once daily", 100 mg/zi.

Administrarea de interferon poate prezenta dezavantajul reacţiilor adverse, într-o paletă largă, de la tulburări de aspect nevrotic pînă la trombocitopenii grave cu hemoragii, care impun stoparea terapiei.

Discuţii

Tratamentul etiologic antiviral (interferoni, analogi nucleozidici) este utilizat cu succes în hepatita cronică B[1,2,3]. În hepatita acută terapia antivirală este în curs de evaluare[9,10,11].

Rezultate promiţătoare s-au obţinut în tratamentul acutizărilor formelor cronice de hepatită B, pre- şi post transplant hepatic[8], în infecţiile cu VHB a pacienţilor imunocompromişi, cu transplant de organe[7], cu manifestări vasculitice sistemice severe[5,6].

În România este aprobat tratamentul antiviral al hepatitei acute B, cu evoluţie persistentă, spre cronicizare cu Lamivudină, singură sau în asociere cu IFNα, timp de 4-6 luni.

Tratament antiviral al formelor severe/fulminante de hepatită acută B poate rămîne singura opţiune terapeutică salvatoare în lipsa transplantului hepatic urgent.

În cazul de mai sus, datele clinice (sdr. dispeptic, icteric, hemoragipar şi nervos intens) şi paraclinice (TQ, hiposerinemie, citoliză) indicau o evoluţie severă spre insuficienţă hepatică acută. Introducerea tratamentului antiviral cu α-IFN - o puternică citochină cu acţiuni complexe antivirale, imunomodulatoare şi antiproliferative, în asociere cu Lamivudina – un analog nucleozidic al timidinei, potent inhibitor al replicării VHB, cu o bună biodisponibilitate după administrare orală, a reuşit stoparea evoluţiei nefavorabile a pacientului şi stoparea replicării virale (anticorpi anti-Hbe prezenţi, AgHBs absent)

Severitatea manifestărilor clinice (mortalitate peste 60%), frecvenţa relativ crescută (1% din cazuri) şi lipsa unor metode terapeutice eficiente în forma fulminantă a hepatitei acute B impun găsirea urgentă a unei medicaţii capabile să oprească evoluţia nefavorabilă spre deces a acestei boli, iar *lamivudina* pare a fi un candidat promiţător în această direcţie.

Bibliografie

1. CHIOTAN M, ARAMĂ V, HRISTEA A – Hepatitele acute virale, ghid colegiul medicilor, vol II, 1-30
2. DIENSTAG JL, SCHIFF ER., TERESA L. et al. - Lamivudine as Initial Treatment for Chronic Hepatitis B in the United States, N Engl J Med 1999, 341:1256-1263
3. GUPTA S, PIRAKA C, JAFFE M - Lamivudine in the Treatment of Polyarteritis Nodosa Associated with Acute Hepatitis B, N Engl J Med 2001,344:1645-1646
4. HAN SH, SAAB S, MARTIN P. - Acute Viral Hepatitis, Curr Treat Options Gastroenterol 2000 Dec;3(6):481-486
5. IONIȚĂ A, OPROIU Al – Hepatitele cronice, în Medicina internă sred L. Gherasim, ed. Medicală 1999, vol. III, 765-829
6. KAWAI H, FEINSTONE SM - Acute Viral Hepatitis, în Mandell, Bennett, Dolin Principles and practice of infectious diseases, 5th edition, 2000, 1279-1297
7. LAU CF, HUI PK, CHAN WM, FUNG TT, TUNG YM, LOO CK, YIP WC, LAM KM. - Hepatitis B associated fulminant polyarteritis nodosa: successful treatment with pulse cyclophosphamide, prednisolone and lamivudine following emergency surgery, Eur J Gastroenterol Hepatol 2002 May;14(5):563-6
8. LEE WM - Acute Liver Failure, New England Journal of Medecine, 1993, 329, 25, 1862-1872
9. RESHEF R, SBEIT W - Lamivudine in the Treatment of Acute Hepatitis B, N Engl J Med, 2000, 343:1123-1124
10. ROBINSON WS – Hepatitis B virus and Hepatitis D virus, in Mandell, Bennett, Dolin's Principles and practice of infectious diseases, 5th ed., 2000, 1652-1685
11. SEEHOFER D, RAYES N, BERG T, NEUHAUS R, MULLER AR, HOPF U, BECHSTEIN WO, NEUHAUS P - Lamivudine as first- and second-line treatment of hepatitis B infection after liver transplantation Transpl Int 2000;13(4):290-6

TRATAMENTUL CU LAMIVUDINA LA PACIENTII TRANSPLANTATI RENAL, AgHBs POZITIV

A. Covic, Mirela Diaconiţa, Irina Buhăescu
Universitatea de Medicină şi Farmacie "Gr. T. Popa" Iaşi/ Spitalul Clinic "Dr. C. I. Parhon"/Centrul de Dializă şi Transplant

Infecţia cu virusul hepatitei B reprezintă o cauză importantă de morbiditate şi mortalitate la pacienţii transplantaţi renal. După implementarea vaccinării de rutină anti HBV s-a constatat o scădere a prevalenţei infecţiei (în medie – în jur de 24% înainte de 1982 şi doar 9% după 1982, diferenţa fiind semnificativă statistic). Totuşi, în ţările în curs de dezvoltare se înregistrează încă o prevalenţă mare a purtătorilor de Ag HBs în rândurile pacienţilor dializaţi (9-20%), aceasta conducând implicit la o prevalenţă mai crescută a pacienţilor infectaţi viral care beneficiază de un transplant renal. Cel mai adesea, pacienţii transplantaţi renal cu Ag HBs pozitiv sunt recrutaţi din rândurile celor care au fost deja infectaţi în momentul transplantului, rare fiind cazurile care se infectează după transplant.

Tratamentul imunosupresor administrat pentru prevenirea rejetului favorizează, în cazul specific al pacienţilor Ag HBs pozitivi, replicarea virusului, şi, deci, evoluţia nefavorabilă a hepatitei virale. Supravieţuirea acestor pacienţi este, în consecinţă, influenţată negativ, prin incidenţa crescută a hepatopatiei cronice virale şi a hepatitelor acute fulminante, a cirozei hepatice şi a cancerului hepatic. Nu este însă precis determinată influenţa prezenţei virusului B asupra supravieţuirii grefei renale.

Prezenta AgHBs la pacienţii cu IRC terminală aflaţi pe lista de aşteptare pentru grefa renală reprezintă o problemă importantă datorită riscului disfuncţiei hepatice în contextul imunosupresiei posttransplant. Biopsia renală trebuie să facă parte obligatoriu din bilanţul de evaluare pre-transplant al candidaţilor Ag HBs pozitiv, decizia privind înscrierea pe lista de aşteptare depinzând decisiv în funcţie de histologia hepatitei. Pacienţii cu hepatită cronică severă, cu bridging fibrosis sau ciroză, nu vor putea beneficia de un transplant renal, dat fiind riscul major de agravare a afecţiunii hepatice în post-transplant. Transplantul renal este posibil în cazul pacienţilor cu leziuni histologice moderate. Dacă sunt prezenţi markerii replicării virale (Ag HBe, ADN VHB), terapia cu viza anti-virală se va administra înainte de transplant pentru prevenirea progresiei bolii hepatice.

Toti pacienţii HBV pozitivi vor trebui să beneficieze de terapie antivirală

după transplant. Scopul tratamentului este *oprirea* replicării virale. Răspunsul la tratament este evaluat din trei puncte de vedere: biochimic (citoliza), virologic (Ag HBe, AND viral) şi histologic (leziunile inflamatorii şi de necroză hepatică). În absenţa terapiei antivirale s-a constatat persistenţa ADN viral în concentraţii crescute şi deteriorarea histologică hepatică (progresia leziunilor spre hepatita cronică activă, ciroza hepatică, carcinom hepato-celular) la 41% (1)- 60% (2) - 85% pacienţi (3).

Supravieţuirea grefei a fost similară la pacienţii cu hepatita cu virus B (definiţi prin Ag Hbs sau/şi Ag Hbe pozitiv – vezi şi mai jos) comparativ cu pacienţii neinfectaţi (4). Totuşi, surprinzător, studiul lui Grekas şi al. (5) evidentiază că, deşi supravieţuirea grefei este similară la cele două grupe de pacienţi în primul an posttransplant, pe termen lung (după 5 ani) supravieţuirea grefei este semnificativ mai mică ($p<0.001$) la pacienţii AgHBs negativ; Fornairon şi al. (3) observă de asemenea că supravieţuirea grefei este semnificativ mai bună ($p=0.0006$) la pacienţii AgHBs pozitiv comparativ cu cei AgHBs negativ. După Breitenfeldt şi al. (6) supravieţuirea grefei a fost semnificativ mai mică ($p=0.0087$) la pacienţii cu coinfecţie B+C şi la cei cu AgHBe pozitiv ($p=0.002$); infecţia cu VHC sau prezenţa AgHBs nu are un impact semnificativ asupra supravieţuirii grefei.

Strategia terapeutică în hepatita B după transplantul renal

La pacienţii nonrenali **interferonul alfa** este utilizat de prima intenţie, în cele mai multe studii fiind eficient la 30-40% dintre pacienţi. Se pare că eficienţa antivirală a interferonului este similară la pacienţii transplantaţi renal şi la cei imunocompetenţi. Utilizarea limitată a interferonului la pacienţii transplantaţi renal, HBV pozitivi, este legată de *frecvenţa mare a apariţiei insuficienţei renale acute* în timpul acestui tratament. Alterarea funcţiei renale - cu o frecvenţă citată în literatura de 43%, este datorată rejetului acut, frecvent ireversibil, corticorezistent, sau unei nefropatii tubulo-interstiţiale cu alterări glomerulare asociate. Prezentăm în sinteză rezultatele celor mai relevante studii privind terapia cu interferon la pacienţii transplantaţi renal:

- Interferonul alfa are eficienţa moderată (normalizarea transaminazelor la 43% dintre pacienţi) în tratamentul hepatitei cronice cu VHB, funcţia grefei rămânând stabilă la doar 73% pacienţi, *în timp ce la 17% pacienţi a survenit rejetul acut, cu pierderea grefei la două treimi dintre aceştia* (7);
- Interferonul alfa previne replicarea VHB pe o perioadă îndelungată (ADN viral negativ după 19 luni de la terminarea tratamentului) (8);
- În ceea ce priveşte utilizarea interferonului la pacienţii cu coinfecţie B+C există controverse: Durlik şi al. (9) susţine că interferonul nu este eficient în cazul coinfecţiei B+C, în timp ce studiul lui Guptan (10) a

evidenţiat ca utilizarea interferonului în tratamentul coinfecţiei este sigură şi eficace (mai ales în epurarea ADN-HBV: negativarea ADN-HBV la 100% pacienţi, faţă de dispariţia ARN-HCV la doar 29% pacienţi).

Lamivudina reprezintă medicaţia de elecţie / de prima intenţie, la pacienţii transplantaţi renal cu Ag HBs pozitiv.

Lamivudina (3TC) este un enantiomer al 2',3'-dideoxi3'-tiacitidina care este fosforilată la trifosfat (3TC-TP) şi este incorporată în ADN viral de către polimeraza virală (în timpul transcripţiei inverse) determinând inhibiţia replicării virale. Lamivudina se absoarbe rapid după administrare per os, atingând concentraţia maximă după 0.5-1.5 ore. Timpul de înjumătăţire este de 5-7 ore la adult şi 2 ore la copil. Eliminarea se face în cea mai mare parte prin urină. La pacienţii renali se ajustează dozele în funcţie de clearence-ul de creatinină (reducerea funcţiei renale se asociază cu scăderea Cl lamivudinei). La pacienţii hemodializaţi nu este necesară modificarea dozei, deoarece, deşi este dializabilă, cu o rată de extracţie de 50%, lamivudina are un volum mare de distribuţie (1ooL), astfel că o şedinţă de HD de 4 ore nu modifică concentraţia plasmatică a lamivudinei. Vom trece în revistă datele din literatură referitoare la tratamentul cu lamivudina al infecţiei cu VHB la pacienţii transplantaţi renal. Experienţa acumulată, deşi consistentă, provine din studiile în general mici, fără o populaţie de control adecvată. Putem afirma, chiar din start că ***experienţa clinică a terapiei cu lamivudina este limitată, neexistând date concludente privind momentul iniţierii terapiei, durata terapiei şi criteriile care impun tratamentul.***

În privinţa ***momentului*** iniţierii terapiei cu lamivudina la pacienţii Ag HBs pozitivi, există încă semne de întrebare. Sunt tot mai mulţi specialiştii care recomandă administrarea lamivudinei în pretransplant, indiferent de statusul ADN VHB. Administrarea preemptivă (la cei cu ADN VHB prezent) şi profilactică (la cei cu ADN VHB absent) sunt benefice, constituind o strategie eficientă pentru prevenirea reactivării VHB în post-transplant. Rata recurenţei viremiei a fost semnificativ mai mică la aceşti pacienţi (10%) comparativ cu pacienţii netrataţi (42.3%) (11). În studiul retrospectiv efectuat de Su-Kil Park şi al. (1) criteriile de iniţiere a terapiei cu lamivudina au fost cel histologic şi cel biochimic şi anume: tratamentul a fost început pretransplant doar la pacienţii cu piecemeal necrosis şi valori mari ale transaminazelor, ceilalţi pacienţi neprimind lamivudina decât în condiţiile creşterii transaminazelor post-transplant. The American Society of Transplantation recomandă terapia cu lamivudina la toţi pacienţii transplantaţi cu AgHBs pozitiv; iniţierea tratamentului se va face în momentul transplantului renal şi va avea o durată de 18-24 luni.

Doza de lamivudina utilizată în toate studiile a fost de 100-150 mg/zi.

Nici în ceea ce priveşte ***durata tratamentului*** cu lamivudina nu există un consens. S-au raportat cazuri de reluare a replicării virale dupa 6 luni de tratament (22). Markerii serici de replicare virală sunt ADN VHB şi Ag HBe. Identificarea

acestor makeri este utilă în aprecierea eficacității terapiei şi a prognosticului. Dispariția spontană a Ag HBe din ser este urmată de o ameliorare a prognosticului în cazul pacienților netratați. Dispariția concomitentă a ADN VHB şi a Ag HBe se întâlneşte în cazul remisiunilor. Întreruperea tratamentului cu Lamivudina poate să fie urmată de o creştere a valorilor ADN VHB, iar în cazuri extreme, chiar de insuficiența hepatică severă sau encefalopatie hepatică.

Rezultatele studiilor din literatură privind tratamentul cu lamivudina la pacienții transplantați cu AgHBs pozitiv au fost următoarele – (24)

Autori	Numar de pacienți	Doza de Lamivudina (mg/zi)	Durata tratamentului (luni)	Răspuns biochimic	Răspuns virologic
Rostaing et al (22)	6	100	6	80%	67%
Goffin et al (26)	4	100	16	100%	100%
Jung et al (16)	6	100-150	8.2	100%	100%
Kletzmayr et al (12)	19	100	12	100%	93%
Fontaine et al (27)	26	100	11		100%
Han et al (11)	6	100	35	100%	100%
Mouquet (28)	15	50-100	16	53%	87%

Pacienții transplantați renal, aflați sub tratament imunosupresor, sunt mai susceptibili la infecția cu o formă mutantă de virus hepatitic B. Clinic, hepatita determinată de virusurile B mutante este foarte severă. Meisel şi col. (23) au demonstrat eficacitatea terapiei cu Lamivudina în cazul unui pacient transplantat renal, suferind de ciroză hepatică gravă (Child C) legată de infecția cu o formă mutantă de VHB (cu ADN VHB, Ag HBs şi Ag HBe persistente): ameliorare clinică (Child A) şi biologică evidente. De fapt, şi în cazul pacienților cu ciroză hepatică post-virală avansată, tratamentul cu lamivudina poate determina ameliorarea semnificativă a statusului clinic, fiind o alternativă terapeutică prețioasă a interferonului. La aceşti pacienți, interferonul prezintă un risc crescut de reacții adverse, rezerva hepatică fiind insuficientă pentru a suporta o terapie de inducție agresivă (24).

Predicția răspunsului la terapia cu lamivudina

Valoarea TGP pre-tratament reprezintă cel mai important factor predictiv al seroconversiei AgHBe (15). Astfel, cea mai mare rată a seroconversiei AgHBe s-a înregistrat la pacienții cu TGP > 5x decât limita superioară a normalului (64% față de 26% la cei cu TGP de 2-5 ori mai mare decât normalul, respectiv 1% la cei cu TGP în limite normale). Prezenta pretratament a AgHBe şi a ADN viral nu reprezintă un factor predictiv al agravării leziunilor hepatice (1, 18); totuşi studiul retrospectiv al lui Fairley cuprinzând 42 pacienți AgHBs pozitiv transplantați renal

în perioada 1966-1989, evidenţiază că prezenţa ADN viral şi a AgHBe pretransplant se corelează cu probabilitatea crescută de deces prin agravarea afecţiunii hepatice.

Rezistenţa la lamivudină

Utilizarea îndelungată a lamivudinei poate induce **rezistenţa** prin apariţia de forme mutante de virus, acest lucru constituind cea mai importantă limitare a terapiei antivirale. Rezistenţa la tratament creşte cu durata administrării drogului: 27% la 12 luni şi 58% la 24 de luni în cazul pacienţilor imunocompetenţi (24). Instalarea rezistenţei la lamivudina se însoţeşte de accelerarea disfuncţiei hepatice şi de creşterea nivelului ADN viral. Părerea unanimă este că, în pofida rezistenţei virusului mutant la tratament, terapia cu lamivudina trebuie continuată, dat fiind posibilitatea dispariţiei Ag HBs, cât şi a unei certe inhibări a vitezei de replicare a mutanţilor (17, 14, 24).

Studiul lui Puchhammer-Stockl (13) sugerează că apariţia rezistenţei la lamivudina este predictibilă. Persistenţa unei concentraţii crescute a ADN viral ($1x10^3$) după 3 luni de tratament cu lamivudina indică instalarea ulterioară a rezistenţei la lamivudina.

Efectul terapiei cu lamivudina asupra grefei renale. În general lamivudina nu a modificat funcţia renală sau proteinuria; în studiul lui Su-Kil Park (1) un singur pacient (5.8%) a pierdut grefa, alţi 3 pacienţi (17.6%) au prezentat episoade de rejet acut reversibile. În studiul lui Jung (16) un pacient (16.6%) a prezentat un episod de de rejet acut reversibil. ***Efectele adverse*** (altele decât impactul asupra grefei renale) mai frecvent întâlnite sunt: neurologice (vertij, cefalee), dermatologice (rash), hematologice (neutropenie), respiratorii (tuse), hepatice (cresterea transaminazelor), mialgii, artralgii.

Concluzii.

Lamivudina este cel mai promiţător agent anti-viral, a cărui utilizare în cazul pacienţilor transplantaţi renal, infectaţi cu virusul hepatitei B, reprezintă o strategie eficientă în prevenirea progresiei disfuncţiei hepatice în condiţiile tratamentului imuno-supresor. Medicamentul este bine tolerat, efectele secundare fiind nesemnificative. Cel mai important este faptul că administrarea lui nu este urmată de deteriorarea funcţiei renale.

O întrebare la care încă nu s-a răspuns este cât timp trebuie administrat tratamentul cu lamivudina. Determinarea ADN-ului viral prin tehnica hibridizării moleculare-tehnica utilizată de majoritatea studiilor - este mai puţin sensibilă decât PCR (*polimerase chain reaction*). Lipsa detecţiei AND-ului viral (prin alte tehnici decât PCR) nu este deci un criteriu absolut care să semneze remisiunea şi să dicteze întreruperea tratamentului. Sunt necesare studii care să stabilească strategia terapeutică optimă în cazul pacienţilor transplantaţi. De asemenea, urmează să se

stabilească cu certitudine dacă într-adevăr există o diferență de agresivitate între diversele genotipuri ale virusului şi dacă identificarea precisă a genotipului ar putea să aibă influențe asupra deciziei terapeutice.

Bibliografie

1. PARK SK, YANG WS, LEE YS, JUNG HH, CHANG JW, CHOI HJ, HAN DJ, PARK JS. Outcome of renal transplantation in hepatitis B surface antigen-positive patients after introduction of lamivudine. Nephrol Dial Transplant, 2001, Nov, 16; 2222-8
2. PARFREY PS, FORBES RD, HUTCHINSON TA, BEAUDOIN JG, DAUPHINEE WD, HOLLOMBY DJ, GUTTMANN RD. The clinical and pathological course of hepatitis B liver disease in renal transplant recipients. Transplantation, 1984, May; 37(5), 461-6
3. FORNARION S, POL S, LEGENDRE C, CARNOT F, MAMZER- BRUNEEL MF, BRECHOT C, KREIS H. The long term virologic and pathologic impact of renal transplantation on chronic hepatitis B virus infection. Transplantation, 1996, Jul, 27; 62(2): 297-299
4. CHAN PC, LOK AS, CHENG IK, CHAN MK. The impact of donor and recipient hepatitis B surface antigen status on liver disease and survival in renal transplant recipients. Transplantation, 1999, Jan; 53(1): 128-31
5. GREKAS D, DIOUDIS C, MANDRAVELI K, ALIVANIS P, ALEXIOU S, DERVENIOTIS V, HATZIBALOGLOU A, TOURKANTONIS A. Renal transplantation in asymptomatic carriers of hepatitis B surface antigen. Nephron 1995; 69(3): 267-72
6. BREITENFELDT MK, RASENACK J, BERTHOLD H, OLSCHEWSKI M, SCHROFF J, STREY C, GROTZ WH. Clin Transplant 2002 Apr; 16(2): 130-6
7. DURLIK M, GANCIONG Z, ROWINSKA D, RANCEWICZ Z, LEWADOWSKA D, KOZLOWSKA B, WYZGAL J, SOULCH L, WALEWSKA-ZIELECKA B, ROWINSKI W, LAO M. Long-term results of treatment of chronic hepatitis B,B and D with interferon alpha in renal allograft recipients. Transpl Int 1998: 11 Suppl 1: S135-9
8. ROSTAING L, IZOPET J, CISTERNE JM, BARON E, RUMEAU JL, CHABANNIER MH, DUFFAUT M, DURAND D. Treatment of chronic hepatitis B and C with alpha interferon in renal transplant patient. Scand J Urol Nephrol 1996 Dec: 30(6): 485-7
9. DURLIK M, RANCEWICZ Z, GACIONG Z, ROWINSKA Z, NOWACZYK M, KORCZAK KOWALSKA G, WALECKA ZIELECKA B, KOZLOWSKA B, MADEJ K, WYZGAL J, GRADOWSKA L, LAO M.Treatment of chronic hepatitis B and C with interferon alpha in renal allograft recipients: preliminary results. Transpl Int 1994; Suppl 1: S343-5
10. GUPLAN RC, THAKUR V, RAINA V, SARIN SK. Alpha interferon therapy in chronic hepatitis due to active dual infection with hepatitis B and C viruses. J of Gastroenterology and Hepatol 1999 Sept, 14, 893
11. HAN DJ, KIM TH, PARK SK, LEE SK, KIM SB, YANG WS, PARK JS, JUNG JG, YU ES, KIM SC. Results on preemptive or prophylactic treatment of lamivudine in HBsAg(+) renal allograft recipients: comparison with salvage treatment after hepatic dysfunction with HBV recurrence. Transplantation 2001; 71: 387-94. PMID: 5
12. KLETZMAYR J, WATSCHINGER B, MULLER C, DEMETRIOU D, PUCHAMMER-STOCKL E, FERENCI P, KOVARIC J. Twelve months of lamivudine treatment for chronic hepatitis B virus infection in renal transplant recipients. Transplantation 2000; 70: 1404-7.
13. PUCHHAMMER-STOCKL E, MANDL CV, KLETZMAYR J, MOLZMANN H, HOFMANN A, ABERLE SW, HEINZ FX, WATSCHINGER B, HOFMANN H. Monitoring the virus load can predict the emergence of drug resistant hepatitis B virus strains in renal transplantation patients during lamivudine therapy. J Infect Dis. 181: 2063-2066
14. MELEGARI M, SCAGLIONI PP, WANDS J. Hepatitis B virus mutants associated with 3TC

and famciclovir administration are replication defective. Hepatology 1998; 27: 628-33.
15. LAI CL, CHIEN RN, LEUNG NWY, CHANG TT, GUAN R, TAI DI, NG KY, WU PC, DENT JC, BARBER J, STEPHENSON SL, GRAY DF, for the Asia Hepatitis Lamivudine Study Group. A one-year trial of lamivudine for chronic hepatitis B. N Engl J Med 1998; 339: 61-8.
16. JUNG YO, LEE YS, YANG WS, HAN DJ, PARK JS, PARK SK. Treatment of chronic hepatitis B with lamivudine in renal transplant recipients. Transplantation 1998; 66: 733-7.
17. SCHIFF E, CIANCIARA J, KOWDLEY K, NORKRANS G, PERRILLO R, TONG M. Durability of HBeAg seroconversion after lamivudine monotherapy in controlled phase II and III trials. International Lamivudine Investigator Group. Hepatology 1998; 28: 163 A
18. HUANG CC. Hepatitis in patients with end stage renal disease. J Gastroenterol Hepatol 1997 Oct; 12 (9-10): S236-41
19. JOHNSON MA, MOORE KH, YUEN GJ, BYE A. Clinical pharmacokinetics of lamivudine. Clin Pharmacokinet 1999 Jan; 36(1): 41-66.
20. BEN ARI Z, BROIDA E, KITTAI Y, CHAGNAC A. An open label study of lamivudine for chronic hepatitis B in six patients with chronic renal failure before and after kidney transplantation. Am J Gastroenterol Dec 2000; 95 (12): 3579-83
21. MATHURIN P, MOUQUET C, POYNARD T, SYLLA C, BENALIA H, FRETZ C, THIBAULT V, CADRANEL JF, BERNARD B, OPOLON P, CORIAT P, BITKER MO. Impact of hepatitis B and C virus on kidney transplantation outcome. Hepatology 1999; 29: 257-63
22. ROSTAING L, HENRY S, CISTERNE JM, DUFFAUT M, ICART J, DURAND D. Efficacy and safety of lamivudine on replication of recurrent hepatitis B after cadaveric renal transplantation. Transplantation 1997; 64: 1624-7.
23. MEISEL H, PREIKSCHAT P, REINKE P, HOCHER B, BUDDE K, BECHSTEIN WO, NEUHAUS P, KRUGER DH, NEUMAYER HH. Disappearance of hepatitis B virus core deletion mutants and successful combined kidney/liver transplantation in a patient treated with lamivudine. Transpl Int 1999; 12: 283-7.
24. Management of hepatitis B after renal transplantation: An update. FABRIZIO FABRIZI, GIOVANNA LUNGHI, FRED F. POORDAD, PAUL MARTIN
25. GROTZ W, GONDOLF K, RASENACK J, BERTHOLD H, RUMP LC, SCHOLLMEYER P. Imminent liver failure in a hepatitis-B-positive renal-allograft recipient: successful therapy with interferon-*. Nephrol Dial Transplant 1995; 10: 1932-4.

Nechifor Mihai, doctor în medicină, medic primar, profesor, şeful Catedrei Farmacologie şi Farmacologie clinică U.M.F. „Gr. T. Popa" Iaşi, conducător de doctorate. Volume: *Medicamentul prieten şi duşman*, Editura Medicală, Bucureşti, 1983; *Medicamentul şi celula vie*, Editura Medicală, Bucureşti, 1984; *Prostaciclina şi tromboxanii*, Editura Medicală, Bucureşti, 1993; *Lipoxine, hepoxiline şi izoprostani*, Editura Polirom, Iaşi, 1997; *Terapia antibacteriană, antifungică şi antivirală în stomatologie*, Editura Glissando, 2001.

În colaborare, editor: *Metabolismul lipidelor biologic active*, Editura Ministerului Chimiei, 1984; *Ghid de date toxicologice*, Editura Medicală, Bucureşti, 1987; *Leucotrienele implicaţii biomedicale*, Editura Medicală, Bucureşti, 1988; *Farmacologie*, Editura U.M.F. Iaşi, 1989; *Pharmacodependences mechanism, clinical aspects, treatment*, Ed. Glissando, 2001.

Capitole de carte: Nechifor M. şi colab., un capitol în lucrarea *Polymers in Medicine - Biomedical and pharmaceutical applications*, Edited by R. M. Ottenbrite, Omo Chilliani, Technomic Publishing AG, 1992, Lancaster, USA; Nechifor M., Capitol VI în *Pharmalocological Receptors*, Ed. Cuparencu B., Timar M., Gloria Publishing House, Cluj-Napoca 1998; Nechifor M., Profilul farmacologic al medicaţiei antituberculoase, în *Tuberculoza o introducere în pneumologie*, ed. I şi ed. II, editori T. Mihăiescu, Ed. Dan, Iaşi, 2001; Nechifor M., *The eicosanoid roles in glycemia regulation* în *Sights in experimental diabetology*, Editors Mircea Cheţa, Ed. Academiei Române, Bucureşti, 2001; Nechifor M., *Involvement of platelet activating factor (PAF) in glucidic metabolism* în *Sights in experimental diabetology*, Editors Mircea Cheţa, Ed. Academiei Române, Bucureşti, 2001; Nechifor M., Chelărescu D. - Effects of $PGF_{2\alpha}$ Analogues in Experimental Morphine-Induced Pharmacodependence; în *Advances in Prostaglandin, Leukotriene and Other Bioactive Lipid Research.Basic Science and Clinical Applications*, Zeliha Yazici Editor, Chapter 24, Kluwer Academic Press, 2003; Nechifor M., Date de farmacoepidemiologie a bolilor transmisibile, în Aurel Ivan (sub redacţia), *Tratat de epidemiologie a bolilor transmisibile*, Cap. IX, Editura Polirom, Iasi, 2002; Nechifor M. şi colab., în *Magnesium Research. Physiology, Pathology and Pharmacology*, J.F. Escanero, J.O. Alde, M. Guerra, J. Durlach, Chapter 24, 177-184, 2002; Nechifor M. şi colab., The Influence of Magnesium, Chromium and Copper în *Alloxan-Induced Diabetic Rats*, Chapter 64, în *Advances in Magnesium Research: Nutrition and Health*, Yves Rayssiguier, Andrzej Mazur and Jean Durlach (eds.), 2001, John Libbey & Company Ltd, pp. 375-379.

Coautor la 26 de brevete OSIM.

Premiul „I.C. Parhon" al Academiei Române, în 1995, pentru monografia „Prostaciclina şi tromboxanii", Ed. Medicală, Bucureşti.

Membru în 9 societăţi ştiinţifice naţionale şi 8 societăţi ştiinţifice internaţionale. Preşedinte al Societăţii Române de Studiu al Chimioterapicelor, vicepreşedinte al Societăţii Române de Studiu al Magneziului (vicepreşedinte din 1999).

CASA CĂRŢII DE ŞTIINŢĂ
FONDATĂ 1992

ISBN 973-686-481-2